



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

**Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap**
Institutionen för Kliniska
Vetenskaper

Intraartikulär mineralisering i knäleden hos katt

En undersökning av potentiellt predisponerande faktorer,
bilddiagnostisk detektion och association med morfologiska
osteoartritlesioner i ledbrösket

Antonia Corin

*Uppsala
2016*

Examensarbete 30 hp inom veterinärprogrammet

*ISSN 1652-8697
Examensarbete 2016:30*

Intraartikulär mineralisering i knäleden hos katt

En undersökning av potentiellt predisponerande faktorer, bilddiagnostisk detektion och association med morfologiska osteoartritleSIONER i ledbrösket

Intra-articular mineralization in the feline stifle

An investigation of potential predisposing factors, detection with diagnostic imaging and association with morphological osteoarthritis lesions in the articular cartilage

Antonia Corin

Handledare: Charles Ley, institutionen för Kliniska Vetenskaper

Biträdande handledare: Cecilia Ley, institutionen för Biomedicin och Veterinär Folkhälsovetenskap

Examinator: Kerstin Hansson, institutionen för Kliniska Vetenskaper

Examensarbete i veterinärmedicin, Kliniska vetenskaper

Omfattning: 30 hp

Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A2E

Kurskod: EX0736

Program/utbildning: Veterinärprogrammet

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2016

Serietitel: Examensarbete / Sveriges lantbruksuniversitet, Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap, Veterinärprogrammet

Delnummer i serie: Examensarbete 2016:30

ISSN: 1652-8697

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: meniskmineralisering, intraartikulär mineralisering, knäleder, katter, feline osteoartrit, datortomografi, radiologi, röntgen

Keywords: meniscal mineralization, intraarticular mineralization, knee joints, cats, feline osteoarthritis, computed tomography, radiology, radiography

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för Kliniska Vetenskaper

SAMMANFATTNING

Intraartikulär mineralisering är ett vanligt fynd vid röntgendiagnostik av knäleder hos katter. Etiologin till mineraliseringen är fortfarande okänd, men ett flertal studier har påvisat ett samband med osteoartrit. Syftet med detta arbete var att med hjälp av datortomografi av höger knäled från katter och resultat från histologisk analys av ledbrösket undersöka samband mellan intraartikulär mineralisering och osteoartrit. Syftet var även att leta efter samband mellan intraartikulär mineralisering och andra parametrar som kattens storlek, ålder, kön och volym på sesamoidben vilka skulle kunna ge indikationer om bakomliggande etiologi. Ytterligare ett syfte med arbetet var att utvärdera röntgen med avseende på detektion av intraartikulära mineraliseringar, där datortomografi användes som ”gold standard”.

Detta arbete använde sig av kattkadaver som genomgått röntgen och datortomografisk undersökning av höger knäled för att mäta volym på intraartikulära mineraliseringar, sesamoidben och femur. Gradering av ledbröskets morfologiska osteoartritleSIONER, vilket utfördes som del av en annan studie, användes i detta arbete och jämfördes med volym och förekomst av de intraartikulära mineraliseringarna.

Intraartikulär mineralisering detekterades i 14 av 31 knäleder varav 11 av mineraliseringarna var små i storlek ($<2,25 \text{ mm}^2$), men inga stora ($>6,25 \text{ mm}^2$) i jämförelse med tidigare studier. Inga signifikanta samband kunde påvisas mellan förekomst av intraartikulär mineralisering och morfologiska osteoartritleSIONER, femurvolym, lateral fabellvolym, popliteal sesamoidvolym, patellavolym, kön eller ålder av katterna. Dock kunde ett signifikant samband ses mellan den mediala fabellens volym och förekomst av intraartikulär mineralisering. Röntgen hade hög sensitivitet och specificitet för detektion av intraartikulär mineralisering. Slutsatserna är att mineraliseringar med liten volym inte är associerade med ledbrösklesioner och att katter med mineraliserad medial fabell tenderar även att ha en större volym av den mediala fabellen vid förekomst av intraartikulär mineralisering.

SUMMARY

Intra-articular mineralization is a common radiographic finding in cat stifles. The etiology of the mineralization remains unknown, but several studies have shown a correlation with osteoarthritis. The aim of this study was to investigate possible correlations between intra-articular mineralization and osteoarthritis by examination of the right stifle joint by computed tomography and results from histological analysis of the articular cartilage. The aim was also to look for correlations between intra-articular mineralization and other parameters such as cat size, age, sex and sesamoid bone volume which could give indications of the underlying etiology. Additionally, another aim of this study was to evaluate the detection of intra-articular mineralization with radiography, where computed tomography was used as “gold standard”.

The study material consisted of cat cadavers that underwent radiography and computed tomography of the right stifle. The volume of intra-articular mineralizations, sesamoid bones and femur were measured.

The morphologic osteoarthritis lesions of the articular cartilage were graded as a part of another study, and were in the current study compared with the volume and presence of the intra-articular mineralizations.

Intra-articular mineralizations were detected in 14 of 31 stifles and most (11) of the mineralizations were small ($<2,25 \text{ mm}^2$), and no mineralizations were large ($>6,25 \text{ mm}^2$) when compared to earlier studies. No significant correlation was found between intra-articular mineralizations and morphological osteoarthritis lesions of the articular cartilage, femur volume, lateral fabella volume, popliteal sesamoid volume, patella volume, sex or age of the cats. A significant correlation was found between the volume of the medial fabella and the presence of intra-articular mineralization. Radiography had a high sensitivity and specificity for detection of intra-articular mineralizations. The study concluded that small-volume mineralization was not associated with osteoarthritis lesions of the articular cartilage and that cats with mineralized medial fabella tended to have larger medial fabella volume when intra-articular mineralization was present.

INNEHÅLL

INLEDNING	1
LITTERATURÖVERSIKT	3
Mineralisering av mjukdelar	3
Fysiologisk ossifikation.....	3
Ektopisk mineralisering.....	3
Ektopisk ossifikation	4
Metoder för detektion av mineralisering	5
Påvisande av mineralisering med bilddiagnostik	5
Påvisande av mineralisering i histologiska preparat	11
Knäleden hos katt	12
Sesamoidben.....	12
Menisker.....	13
Intraartikulär mineralisering.....	17
Förekomst hos olika djurarter	18
Osteoartrit hos katt	19
Koppling mellan intraartikulär mineralisering och osteoartrit	20
MATERIAL OCH METODER	21
Undersökningsmaterial.....	21
Osteoartrit- och röntgenstudien	21
Bilddiagnostiska metoder	22
Datortomografi	23
Röntgen	26
Statistiska analyser	27
RESULTAT	29
Förekomst och lokalisation av intraartikulär mineralisering.....	29
Intraartikulär mineraliseringvolymns samband med sesamoidbenvolym, femurvolym och ålder.....	33
Utvärdering av röntgen jämfört med DT för detektion av intraartikulär mineralisering	34
Intraartikulär mineraliserings och mediala fabellens samband med brosklesioner.....	34
Korrelation mellan volymmätningssmetoderna.....	35
DISKUSSION	36
Intraartikulär mineralisering.....	36
Bilddiagnostik	40

Mätmetoder	42
KONKLUSION.....	44
LITTERATURFÖRTECKNING	46

INLEDNING

De senaste två decennierna har kattens status som värdefullt och omtyckt husdjur ökat, vilket sannolikt är en bidragande orsak till det allt större intresset för kattspezifisk veterinärvård och kunskap. Intraartikulär mineralisering är en relativt vanlig observation vid röntgenundersökning av knäleden på katt (Freire et al. 2010) och har länge ansetts vara ett bifynd, oftast bedömt som utan klinisk relevans (Whiting & Pool 1985; Allan 2000; Mahoney 2012). Dessa mineraltätheter utgörs ofta av så kallade meniskmineraliseringar och kan till exempel bestå av lokal kalciumkristallinlagring eller väl strukturerad benbildning (Freire et al. 2010; Voss et al. 2015; Ariffin 2015).

Varför intraartikulär mineralisering är ett vanligt fynd med okänd etiologi hos katter, men ett patologiskt och ovanligt fynd hos hundar är fortfarande oklart. Några studier har visat ett potentiellt samband mellan intraartikulär mineralisering och osteoartrit hos katt vilket indikerar att det kan röra sig om en patologisk process (Freire et al. 2010; Voss et al. 2015; Ariffin 2015). En av studierna hittade signifikant samband mellan större mineraliseringar och osteoartrit, medan mindre mineraliseringar som satt inuti meniskerna sannolikt inte verkade ha denna koppling (Voss et al. 2015). Om ytterligare studier kan påvisa ett klart samband mellan intraartikulär mineralisering och osteoartrit kan intraartikulär mineralisering eventuellt utgöra ett tidigt bilddiagnostiskt tecken på osteoartrit hos katt. Ett flertal studier har också utförts på vilda kattdjur där dock inget sådant samband har kunnat påvisas (Walker et al. 2002; Ganey et al. 1994; Rahal et al. 2013). Att hitta en potentiell tidig diagnostisk markör för osteoartrit hos katt skulle vara värdefullt då smärt- och håltundersökningar på katt kan vara svåra att utföra och tolka (Hardie et al. 2002; Lascelles 2010; Clarke & Bennett 2006; Bennet 2010).

I dagsläget har dock ingen studie utfört noggrann histopatologisk undersökning av ledbrösket i samband med förekomst av intraartikulär mineralisering. Modaliteten som använts vid ovan nämnda studier har varit röntgen, men ingen studie har hittills använt sig av datortomografi (DT) för detektion av intraartikulär mineralisering på katt. Möjligheten att analysera leden snitt för snitt, att använda tredimensionell (3D)-bildrekonstruktion samt modalitetens höga sensitivitet för mineralisering gör DT till en mycket fördelaktig diagnostisk metod.

Detta examensarbete syftar att försöka besvara tre huvudfrågeställningar. Det första är att undersöka om det föreligger en korrelation mellan förekomst och/eller volym av intraartikulär mineralisering och femurvolym (kattstorlek), sesamoidbensvolym (knäledsassocierade) och ålder. Hypotesen är att intraartikulär mineralisering är en patologisk process som sker i korrelation med

- kattens storlek, p.g.a. ökad ledbelastning
- osteoartrit, vilket har högre incidens hos äldre katter och skulle kunna resultera i ökad sesamoidbensvolym till följd av osteofytbildning
- ålder, p.g.a. slitage i leden

Den andra frågeställningen är att undersöka och beräkna röntgens sensitivitet och specificitet när DT används som ”gold standard” med avseende på detektion av intraartikulär mineralisering.

Den tredje frågeställningen är att undersöka om det finns korrelation mellan mineraliseringsvolym (mätt med DT) och morfologiska osteoartritleSIONER i ledbrösket. I en studie av Freire et al. (2010) hittades bland annat en god korrelation mellan procentuell mineraliserad meniskarea och graden av makroskopiska brosklesioner. En studie av Ariffin (2015) har också visat att förekomst av mineraliserad medial fabell korrelerar med förekomst av kraftiga brosklesioner. Om ett signifikant samband kan konstateras även i denna studie mellan intraartikulär mineralisering och osteoartritleSIONER i ledbrösket kan det leda till ökad bilddiagnostisk säkerhet för huruvida en intraartikulär mineralisering bör tolkas som en patologisk förändring eller normal anatomisk variation.

LITTERATURÖVERSIKT

Mineralisering av mjukdelar

En viss blandning av begreppen mineralisering, ossifikation och kalcifikation förekommer i litteraturen. Definitionsmässigt är kalcifikation och ossifikation en form av mineralisering där den första avser deponering av kalciumkristaller i mjukdelar medan den senare avser strukturerad benbildning. Mineralisering kan därför användas som samlingsbegrepp, men kan också användas vid beskrivning av inlagring av kristaller som inte enbart utgörs av kalciumföreningar, även om dessa är vanligast. Alla ovan nämnda begrepp kan syfta på både patologiska och fysiologiska processer beroende på var och hur de sker (Blood et al. 2007).

Fysiologisk ossifikation

Fysiologisk ossifikation kan delas upp i två kategorier: endochondral och intramembranös ossifikation. Det är dessa processer som utgör fysiologisk benbildning. Vid endochondral benbildning sker mineralisering av broskmatrix, vilket huvudsakligen sker i långa rörben under den fetala utvecklingen men även i tillväxtplattor under växande djurs utveckling. Intramembranös benbildning innefattar till skillnad från endochondral benbildning inte bildande av en broskmall, utan innebär en mineralisering av osteoid som bildats av osteoblaster på en mall av fibrös bindväv. Denna typ av ossifikation sker bland annat i utvecklingen av skallbenen. Mineralerna som lagras in består huvudsakligen av hydroxyapatit $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ vilket utgör den större delen av normal skelettvävnad (Thompson 2007).

Mekanismen för hur fysiologisk ossifikation sker är inte helt känd. Osteoblaster spelar dock en stor roll i processen genom att producera vesiklar fyllda med enzym som bryter ner inhibitorer för mineralisering och underlättar deponering av hydroxyapatitkristaller i broskmatrix och kollagenfibrer. Dessa enzymer tros vara en del av vad som förhindrar spontan mineralisering av kollagenfibrer i andra vävnader (Thompson 2007).

Ektopisk mineralisering

Definitionen för ektopisk mineralisering är deponering av kalciumfosfat- eller hydroxyapatitkristaller utanför normal skelettvävnad. Denna process är, trots nomenklaturen, inte detsamma som ektopisk ossifikation som avser bildning av trabekulär och icke neoplastisk benvävnad. Ektopisk mineralisering kan delas in i tre typer: metastatisk, dystrofisk och idiopatisk mineralisering (kalcifikation) (Thompson 2007; Myers et al. 2011).

Metastatisk mineralisering

Metastatisk mineralisering innebär en mineralinlagring i normal mjukvävnad i samband med hyperkalcemi sekundärt till en rubbning i kalcium- eller fosformetabolismen. Några av de vanligaste etiologierna är njursvikt med uremi, vitamin D-förgiftning och paraneoplastiskt syndrom vid produktion av parathormonrelaterat protein (PTHrP).

Den typiska lokaliseringen för metastatisk mineralisering är i vävnader med syrareglerande funktion. Dessa vävnader, såsom magsäcksvägg, lungor och njurmärg har ett mer basiskt pH vilket underlättar mineralprecipitering inuti cellerna. Andra predisponerade vävnader är *tunica media* i artärer, endokardie och tarmmucosa men varför just dessa sistnämnda vävnader mineraliseras är okänt (Thompson 2007; Myers et al. 2011).

Dystrofisk mineralisering

Dystrofisk mineralisering sker i skadad eller nekrotisk vävnad där döda eller döende cellers mitokondrier och omgivande extracellulärt matrix mineraliseras. Detta sker på grund av pH-sänkning samt att cellerna inte längre kan reglera inflödet av kalcium. Till skillnad från metastatisk mineralisering är kalciumnivån i blodet dock normal. Dystrofisk mineralisering kan bland annat ses vid kaseösa tuberkulosgranulom, runtom hydatidcystor och vid nutritionell muskeldegeneration (Myers et al. 2011; Thompson 2007).

Dystrofisk mineralisering förekommer också vid traumatiska leddskador, till exempel vid ruptur av kraniala korsbandet. Detta fenomen är ett vanligt förekommande observandum på hund och katt, där dock förkalkningen hos katt ofta är lokaliserad på den tibiala infästningspunkten istället för själva korsbandet (Harasen & Little 2012). Dystrofisk mineralisering ger oftast inga kliniska problem med undantag för när de utgör mekaniska hinder eller att immunförsvaret reagerar på det som en främmande kropp (Harasen & Little 2012; Mahoney & Lamb 1996; Myers et al. 2011; Thompson 2007).

Idiopatisk mineralisering

Idiopatisk mineralisering sker i till synes normal vävnad och utan känd upphovsmekanism. Exempel på detta är *calcinosis cutis* vid hyperkortisolism och tumoral kalcinos (*calcinosis circumscripta*). Mineraliseringsmekanismerna bakom dessa sjukdomsbilder är okänd, men histologiskt ses lokal kalciumkristallinlagring i elastiska hudfibrer och bildning av tumörliknande noduli i mjukvävnad och hud nära leder (Thompson 2007; Myers et al. 2011)

Ektopisk ossifikation

Ektopisk ossifikation innebär bildning av trabekulärt ben, dock inte av neoplastisk art, i andra vävnader än skelett. Mekanismen är inte känd men den mest accepterade teorin är aktivering av pluripotenta stamceller via tillväxtfaktorer. De flesta fynd av ektopisk ossifikation sker vid obduktioner och klassas oftast som ett bifynd då de sällan orsakar kliniska problem. Exempel är synovialt osteochondrom (endochondral ossifikation av brosknoduli utgående från synovialmembranet) och subpleurala osteom hos äldre hundar samt i juvercarinom på hund (Akiyoshi et al. 2004; Thompson 2007; Voss et al. 2015). Ektopisk ossifikation kan även ske i vävnader där en ektopisk mineralisering har funnits under en längre tidsperiod och kan ses vid *calcinosis cutis*. Metaplasi av samma celler som initierade mineraliseringen eller lokal produktion av tillväxtfaktorer tros vara sannolika mekanismer för detta (Thompson 2007; Ginn et al. 2007).

Metoder för detektion av mineralisering

Påvisande av mineralisering med bilddiagnostik

Det vanligaste sättet att upptäcka ektopisk mineralisering på levande djur är med hjälp av bilddiagnostik såsom röntgen och datortomografi. Röntgen och DT är de vanligaste modaliteterna då de ger en tydlig utlinjering och god spatial upplösning av mineraltätheter. Båda modaliteter, framförallt röntgen, är dessutom tillgängliga i stor utsträckning på veterinärkliniker.

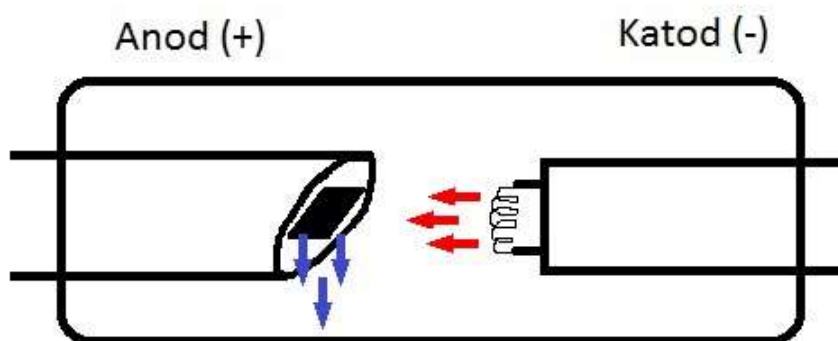
Röntgen

Vid röntgen använder man sig av principen att röntgenstrålning alstrat från ett röntgenrör absorberas, sprids eller släpps igenom vävnader olika mycket beroende på vävnadens attenuering. Attenuering är när strålningsintensiteten minskar medan den passerar genom materia. Attenuering påverkas av vävnadens

- atomnummer, som ofta hänger ihop med hur tungt materialet är
- densitet (g/cm^3), som anger hur tätt ett ämne är
- elektroner per gram (e^-/g), som anger hur tätt med elektroner det är i ett ämne

Att just mineraltätheter syns så bra på röntgen- och DT-bilder beror på att mineraler såsom skelett och kalciuminlagringar har högre densitet, atomnummer och fler elektroner per gram än till exempel vatten (Thrall & Widmer 2013).

Strålningen bildas i ett röntgenrör, som består av en anod och en katod inneslutna i vakuum. Genom att leda ström genom en volframtråd i katoden uppstår ett elektronmoln, vilket sedan med hjälp av hög spänning dras mot anoden (Fig. 1). När elektronerna träffar anodplattan, som består av volfram och rhenium, bildas energi varav en del är röntgenstrålning som riktas mot patienten. Olika varianter av röntgenutrustningar finns, vilka skiljer sig från varandra med avseende på om mottagardelen registrerar röntgenstrålningen analogt eller digitalt.



Figur 1. Förenklad bild av ett röntgenrör. När elektronerna (röda pilar) träffar anodplattan bildas röntgenstrålning (blå pilar) som genom lutning av plattan kan riktas in mot patienten på bordet under röntgenröret.

Analog röntgen

Analog röntgen är den äldsta metoden och används i minskande omfattning. Vid analog röntgenundersökningar används ett film/kassettsystem. Röntgenfilmen omges av två förstärkningsskärmar som fluorescerar vid röntgenstrålsexponering, vilket sensibiliserar ljuskänslig silverbromid i filmen (Thrall & Widmer 2013). Under framkallning fälls metalliskt silver ut och fixeras, och osensibiliserad silverbromid avlägsnas. Det metalliska silvret som finns kvar har en svart färg, och beroende på hur mycket silverbromid som har sensibiliserats (högre röntgenstrålningsgenomsläpp) desto svartare blir bilden. Eftersom mineraliserad vävnad har hög attenuering av röntgenstrålar, och därmed stoppar en hög andel av dem från att nå förstärkningsskärmarna, så blir röntgenbilden ljusgrå eller vit (Thrall & Widmer 2013). Mineraliseringar av mjukdelar syns väldigt bra på röntgenbaserade modaliteter då kontrasten mellan mjukdelar och mineralisering är stor.

Digital röntgen

Digital röntgen kan delas upp i två varianter beroende på hur bilden produceras. Den första varianten är digital röntgen med bildplatteframkallning, även kallad ”computed radiography” (CR). Vid CR har röntgenfilmen ersatts av en bildkassett innehållande en platta med ett lager av ljuskänslig fosfor inuti (Robertson & Thrall 2013). När fosfor träffas av röntgenfotoner förflyttas en elektron till ett yttre elektronskal och stannar där tills bildplattan förs in i en bildplatteframkallare där fosfor utsätts för laserljus. Lasern åstadkommer en tillbakaförflyttning av elektronen till sitt ursprungliga lager, vilket medför utsöndring av ljus som detekteras av avläsaren och används för att producera en digital bild som visas på en datorskärm. Plattan utsätts sedan för ultraviolett ljus för att säkerställa att alla elektroner är tillbaka i ursprungsskalet, vilket möjliggör återanvändning av plattan (Robertson & Thrall 2013).

Den andra varianten är direktdigital framkallning, även kallad ”digital radiography” (DR). Vid DR används inga kassetter eller bildplattor. Istället finns en bildreceptorplatta bestående av många små elektroniska detektorer, som direkt omvandlar röntgenstrålning till elektroniska signaler. Detta producerar sedan en bild på en dataskärm kopplad till röntgensystemet (Robertson & Thrall 2013).

Jämförelse mellan analog och digital röntgen

Digital röntgen har fördelen att kontrastupplösningen är betydligt högre än analog röntgen samt att bilderna kan processas i dator efter att bilden är tagen och därmed korrigera svärta och kontrast som kanske inte blev optimal vid exponering (Carrig 1997; Bansal 2006). När en analog röntgenbild är exponerad och framkallad finns inga sådana korrigeringsalternativ, vilket kan leda till behov av omexponering vilket utsätter patienten för mer strålning.

En fördel med analog röntgen är den höga spatiala upplösningen som innebär att mindre strukturer kan urskiljas bättre, konturer blir skarpare och risken att uppfatta till exempel en liten mineraltäthet som en del av närliggande skelettstruktur är mindre. Men fördelarna hos digital röntgen överväger starkt då det är mycket mer tidseffektivt (i och med digitaliseringen) samt att den högre kontrastupplösning är av högt diagnostiskt värde då man letar efter små

mineraltätheter (Carrig 1997; Robertson & Thrall 2013). DR har sämre spatial upplösning än CR på grund av storleken av de små elektroniska detektorerna, då de innehåller ett flertal elektroniska komponenter som tar upp plats.

Då bildens svärta styrs av antalet fotoner som träffar kassetten/bildplattan/detektorn, så beror svärtan inte bara på hur tät vävnaden är utan också hur många röntgenfotoner som skickas mot patienten. Detta kan ställas in på röntgenmaskinen genom att öka strömstyrkan genom glödtråden, vilket ökar elektronmolnets storlek. Detta resulterar i fler frigjorda röntgenfotoner som skickas mot patienten och anges i milliampere sekunder (mAs). Bildens kontrast styrs istället av spänningen (kilovolt, kV) över röntgenröret. Detta påverkar elektronernas hastighet och därmed röntgenfotonernas energi, vilket styr deras penetrationsförmåga (Thrall & Widmer 2013).

Datortomografi

Datortomografi eller skiktröntgen bygger på samma fysikaliska principer som vanlig digital röntgen. En av skillnaderna är att röntgenrör och röntgendetektor roterar runt patienten och tar ett stort antal projektioner istället för att enbart ta en projektion i taget. Under exponeringen förflyttas röntgenbordet långsamt så att hela patienten passerar genom röntgenstrålarna. Detta ger ett stort antal röntgenbilder som avbildar patienten i skikt. Dessa skikt kan sedan rekonstrueras digitalt och ge en tvådimensionell bild i flera olika plan eller en tredimensionell (3D) rekonstruktion (Fig. 2A-D).

Med DT kan man skilja på olika tätheter med hjälp av en attenueringsskala som anges i Hounsfield units (HU). Skalan utgår ifrån lufts attenueringsgrad (-1000 HU) och vattens attenueringsgrad (0 HU) och anger sedan i numeriska värden om en vävnad har högre eller lägre attenueringsgrad än vatten (Tabell 1). DT är ett mycket bra verktyg när det kommer till detektion av mindre mineraliseringar inuti leder då de många skikten eliminerar problemet med summationer (Hoskinson & Tucker 2001).

Tabell 1. *Olika vävnaders ungefärliga attenueringsgrad angett i Hounsfield Units (HU)* (Purnell et al. 2008)

Vävnad	Hounsfield Units (HU)
Luft	-1000
Fett	-90 till -70
Vatten	0
Mjukdelar	20 till 40
Ben	>350

När man ska titta på en DT-bild så innehåller den ett mycket stort antal grå nyanser (ca 4096), men mänskliga ögon kan bara uppfatta ungefär 30 till 90 olika (Schwarz & Saunders 2011). Denna siffra varierar dock i litteraturen, och en ny studie hävdar att människor kan se upp till 900 grånyanser (Kimpe & Tuytschaever 2007). Bildskärmar som används kan visa ungefär 256 grå nyanser. För att viktig bildinformation inte ska gå förlorad vid avläsning använder man sig därför av så kallade fönster för att begränsa grånyanserna inom ett spektrum där vi kan skilja dem bättre åt (Schwarz & Saunders 2011). Fönster, eller ”windowing”, används genom att man ställer in vilken del av det stora gråskalespannet som ska visas samt hur många grånyanser som ska visas inom det valda spannet, vilket dock begränsas av bildskärmens upplösning. Fönsternivå, eller ”window level” (WL), bestämmer i vilken del av gråskalespektrumet man tittar. Det man anger är alltså vilket mittvärde av HU som fönsterbredden kommer visa grånyanser runt.

Fönsterbredd, eller ”window width” (WW), bestämmer spann av HU som visas på varje sida av mittvärdet (WL). Ju bredare fönster desto mindre kontrast eftersom fler grånyanser inkluderas (Schwarz & O’Brien 2011; Schwarz & Saunders 2011). I praktiken begränsas dock antalet visade grånyanser av bildskärmens upplösning då de flesta bildskärmar som används är begränsade till 256 grånyanser. Ett valt WW på t.ex. 3000 HU kommer inte kunna visas med 3000 grånyanser på bildskärmen, varpå gråskalan måste komprimeras så att varje synlig grånyans på bildskärmen kommer representera 12 HU ($3000/256 \approx 12$). Om WW istället sätts till 256 HU kommer varje grånyans att motsvara 1 HU, vilket ger bättre visualisering av varje grånyanssteg istället för att varje bildskärmssynlig grånyans ”innehåller” 12 grånyanser. Dock kommer bilden på bildskärmen innehålla lika många grånyanser som WW på 3000 HU.

Man kan alltså titta på samma bild men med olika fönster beroende på vilken vävnad eller täthet man vill fokusera på. Att använda ett ”skelettfönster” för att titta på lungvävnad fungerar till exempel mycket dåligt då WL är fokuserat runt skelettäthet och WW visar skelettvävnadens olika variationer i grånyanser. Lungvävnad, som är betydligt mindre attenuerande, kommer därför att se helt svart ut då det ligger utanför vald WL och WW. Metalldelar eller kontrastmedel kommer av samma princip se helt vita ut då de ligger utanför (mycket högre attenuering än skelett) valt WL och WW, fast i andra änden av spektrumet.

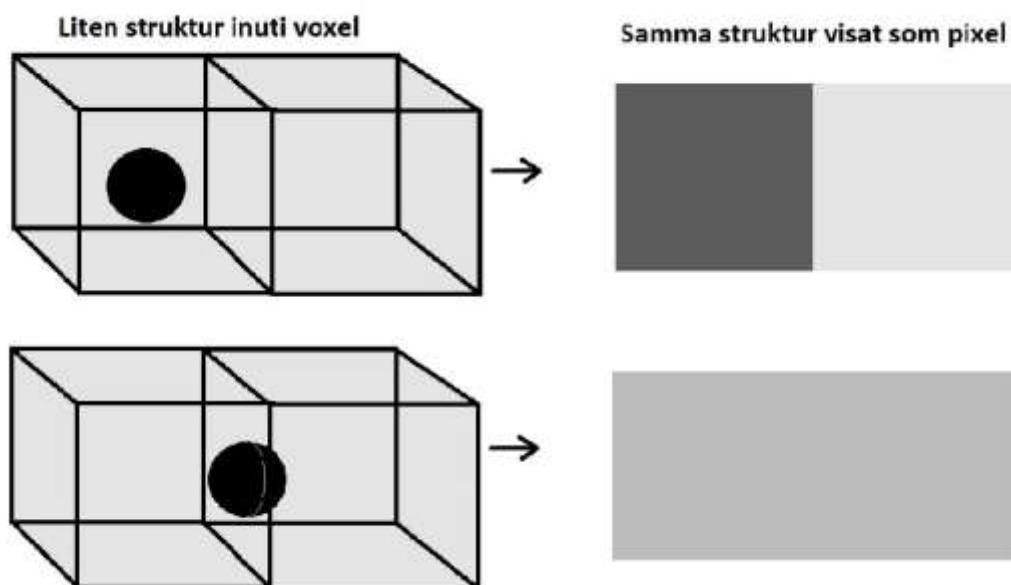
Vid röntgen visas bildinformationen i en tvådimensionell kvadrat, en pixel, medan den tredimensionella motsvarigheten hos DT kallas voxel. En voxel är inte alltid kubisk (isotropisk), dess djup bestäms av skiktens tjocklek. Ju tjockare skikt desto mer artefakter kommer att fås vid rekonstruktion av de andra planen samt 3D-vyn (d’Anjou 2013).

Skiktens tjocklek spelar stor roll för den spatiala upplösningen, då tjocka skikt innebär att fler variationer i attenuering ryms inuti voxelns volym (d’Anjou 2013; Schwarz & O’Brien 2011). En voxel kan bara visa det genomsnittliga värdet för de många olika attenueringarna inuti voxeln, vilket gör att strukturer som är mindre än voxelns volym inte kommer att kunna urskiljas väl, eller inte alls (Fig. 3). En starkt hyperattenuerande struktur som är mindre än en voxels volym avbildas därför som en lågt-måttligt hyperattenuerande struktur med samma mått som voxeln. Om samma struktur istället är delad mellan två voxlar så kommer attenueringen

att upplevas ännu lägre då den fördelats jämnt över två voxlarnas volym. Denna artefakt kallas ”partial volume averaging” och utgör problem när till exempel små mineraliseringar ska detekteras då mineraliseringarna antingen inte syns eller upplevs som större och med lägre attenuering än vad de har i verkligheten (d’Anjou 2013; Schwarz & O’Brien 2011). Skikten kan dock inte heller göras för tunna då signalerna från vävnaden blir alltför svag i kontrast till bakgrundsbruset, vilket försämrar den spatiala upplösningen (d’Anjou 2013; Schwarz & O’Brien 2011).



Figur 2. Multiplanar datortomografisk rekonstruktion av höger knäled på en katt. Datan har sammanfogats digitalt så att knäleden kan observeras från tre plan: sagittalplansbild av det mediala knäledsområdet (A), transversalplansbild i nivå med fabellerna (B) och dorsalplansbild av det kraniala knäledsområdet (C). En intraartikulär mineralisering kan ses medialt och kranialt, vilket är markerat med en pil. Datortomografisk 3D-rekonstruktion av samma led visas i (D), mineralisering markerad med pil.



Figur 3. Illustrering av ”partial volume averaging”. En tydlig men liten struktur som är mindre än en voxel kommer vid visning som pixel (men även som voxel) ge intrycket av en större struktur med lägre attenueringsgrad. Samma struktur placerad mellan två voxlar kommer istället ge intrycket av en struktur av låg attenuering och upplevs betydligt längre än vad den är i verkligheten.

Fördelar och nackdelar med röntgen och DT

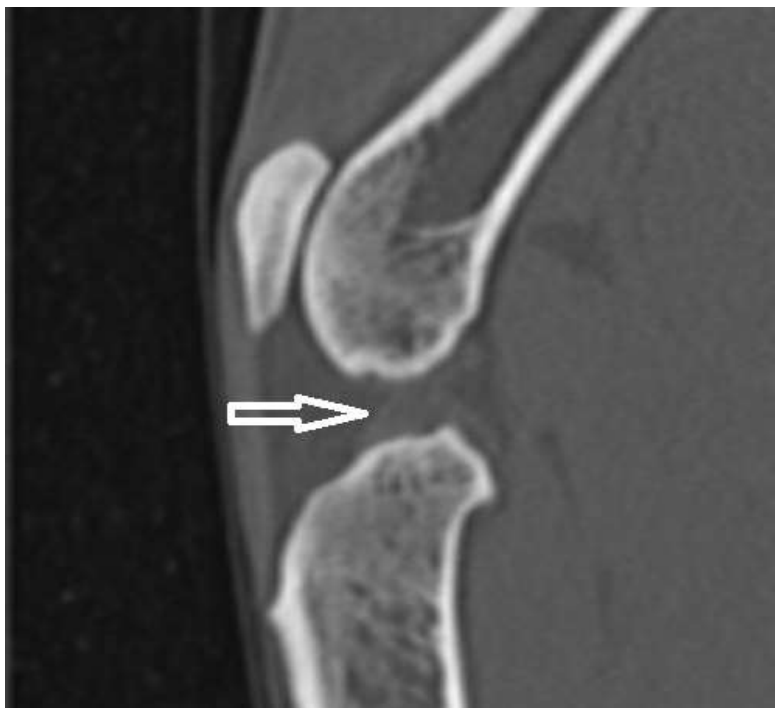
Röntgen är än så länge den billigaste bilddiagnostiska metoden och ger i hög utsträckning mycket bra bilder av mineralisering. De tydligaste bilderna av mjukdelsmineralisering uppnås när mineraliseringen ligger omgiven av vävnad med lägre röntgentäthet och inte blir summerad över något annat. Summationseffekter är en av faktorerna som kan försvåra diagnostik av mjukdelsmineralisering, då det inte är ovanligt att dessa ligger intill eller i nära anslutning till andra mineraltätheter såsom skelettdelar. Detta kan göra mineralisering osynlig i vissa projektioner eller medföra svårigheter att avgöra huruvida det är en separat struktur eller en del av närliggande skelett. Om strukturen på grund av summation bara kan identifieras på en av två projektioner försvårar detta dessutom bedömningen av mineraliseringens position avsevärt (Fig. 4).



Figur 4. Röntgenbilder av knäled på katt. På den mediolaterala projektionen (A) kan ingen mineralisering ses, men i den kaudolateral-kraniomedial oblikprojektionen (B) kan en tydlig rund mineraltäthet ses. När mineraliseringen enbart är synlig på en projektion, i detta fall den sneda, är det omöjligt att uttala sig om den ligger kranialt eller kaudalt i leden. Det går inte heller att avgöra om strukturen ligger mellan femurkondylerna eller mer abaxialt då den mediolaterala projektionen inte bidrar med mer information om placeringen.

Röntgen och DT ansågs i en knäledsstudie på människa vara likvärdiga i att detektera förekomsten av intraartikulära mineraliseringar, men DT möjliggjorde detektion av fler mineraliseringar i de djupare strukturerna av leden. Detta på grund av 3D-rekonstruktionen som bidrog till bättre visualisering av korsband och ledkapsel samt dess infästningar (Misra et al. 2015).

En fördel med DT jämfört med röntgen är att man kan skilja på olika mjukdelstätheter med hjälp av HU samt att summationsproblematiken elimineras (Fig. 5). Genom att kunna skilja på till exempel cellfattig vätska och mjukdelstäthet, vilket inte är möjligt på röntgen, kan en tydligare bild med fler urskiljbara strukturer ses vilket underlättar diagnostiken (Saunders & Ohlerth 2011). Dock liknar vätsketätheter mer och mer mjukdelstäthet ju högre celltal vätskan har. I jämförelse med röntgen, i situationer när summationseffekter inte uppstår, har DT dock sämre spatial upplösning men överlägsen kontrastupplösning (Carrig 1997).



Figur 5. Datortomografibild av kattknä i midsagittalt plan. Området för kraniala och kaudala korsbandet (pil) kan definieras mot det omgivande fett på grund av att summationer inte förekommer på datortomografibilder, jämfört med röntgenbilden i (Fig. 4).

Påvisande av mineralisering i histologiska preparat

Vid histologisk preparering av mineraliserad vävnad eller vävnad med misstänkt mineralisering finns ett flertal metoder och färgningar att tillgå. Oftast görs en urkalkning av preparatet för att underlätta snittning i mikrotom, men en liten mängd kalcium ska finnas kvar för att kalciumspecifik färgning ska fästa in. Urkalkning görs genom att preparatet får ligga i en urkalkningslösning, till exempel myrsyra eller etylendiamintetraacetat (EDTA). Denna process kan ta allt från 24 timmar till flera månader beroende på hur tjockt preparatet är, hur försiktigt man vill urkalka samt vilket medel man använder. Det finns även metoder för att sektionera preparat utan att urkalka, men då krävs speciell inbäddning i plast över flera dagar och en kraftfull mikrotom (Voss et al. 2015).

För att visa morfologiska förändringar i vävnaden är hematoxylin och eosin-färgning (H&E) en bra färgning där kalciuminlagringar blir färgade blålila-lilarosa (Thompson 2007; Orchard 2013). Alizarin red S färgar kalciuminlagringar tydligt röd-orange medan omgivande vävnad grönfärgas. Färgen passar bra till små kalciuminlagringar till exempel njurkalcifikationer vid hyperkalcinos, men den absolut vanligast färgningen för kalcium är von Kossa (Orchard 2013). Von Kossa-färgning använder silvernitratt som svart- eller brunfärgar kalcium vilket gör mineraliseringar lätta att upptäcka, men nackdelen är att de cellulära detaljerna syns sämre (Thompson 2007; Orchard 2013).

Knäleden hos katt

Knäleden är en av de största lederna vars huvudsakliga rörelse innefattar flexion, extension samt rotation (Kowaleski et al. 2012). Knäleden består av flera olika strukturer som tillsammans optimerar ledens funktion, såsom korsbanden, kollateralligamenten och sesamoidbenen. Femur och tibia har i utformningen av sina kondyler inte en optimal passform mot varandra, men detta jämnas ut av meniskerna som skapar en god och friktionsfri artikulation. Skillnaderna mellan katters och hundars knän är anatomiskt få. Bland annat är patellas form annorlunda då apex är mer utdragen samt att katters knäled, jämfört med hund, har större rörelseomfång och kan hyperextenderas (Chandler & Beale 2002).

Sesamoidben

Ett sesamoidben är ett litet ben som bildas inuti en sena och har funktionen att förstärka senan, öka hävstångseffekten hos intilliggande led samt minska friktion på senan när den passerar en led (Dyce et al. 2010). Förutom patella, som är kroppens största sesamoidben, finns ytterligare tre sesamoidben i anslutning till knäleden. Två av dem är fabellerna som ligger i senorna för *m. gastrocnemius* mediala och laterala infästning och har varsin artikulerande yta mot leden (Prosé 1984). Det tredje sesamoidbenet (ibland kallat cyamella) ligger i infästningssenan för *m. popliteus*, och har även den en artikulerande yta (Prosé 1984, McCarthy & Wood 1989). Den mediala fabellen är inte alltid mineraliserad och blir därför inte synlig på röntgen- och DT-bilder. Då fabellen inte är mineraliserad består den av fibröst brosk med centralt riktade kollagenstråk (Arnbjerg & Heje 1993). Arnbjerg och Heje (1993) röntgade 275 katter (kraniokaudala röntgenbilder med pronerade knäleder) med avseende på mineralisering av sesamoidben, varav 247 katter hade en mineraliserad medial fabell. Resultatet visade att avsaknad av mineralisering av den mediala fabellen är något vanligare hos huskatter (18/129) jämfört med hos raskatter (10/146), men också att röntgentäta mediala fabeller var vanligare inom vissa raskattsfamiljer (Arnbjerg & Heje 1993). En studie av Ariffin (2015) beskrev prevalensen av mineraliserad medial fabell till 65,5 %, vilket dock enbart bedömdes på mediolaterala röntgenbilder.

Storleken på kattdjur verkar inte påverka mineralisering av andra sesamoida strukturer runt knäleden då bland annat tigrar kan sakna mineraliserade fabeller helt (Walker et al. 2002). I en studie av Rahal et al. (2013) undersöktes dvärgtigerkatter med röntgen, varav ingen uppvisade mineraliserad medial fabell.

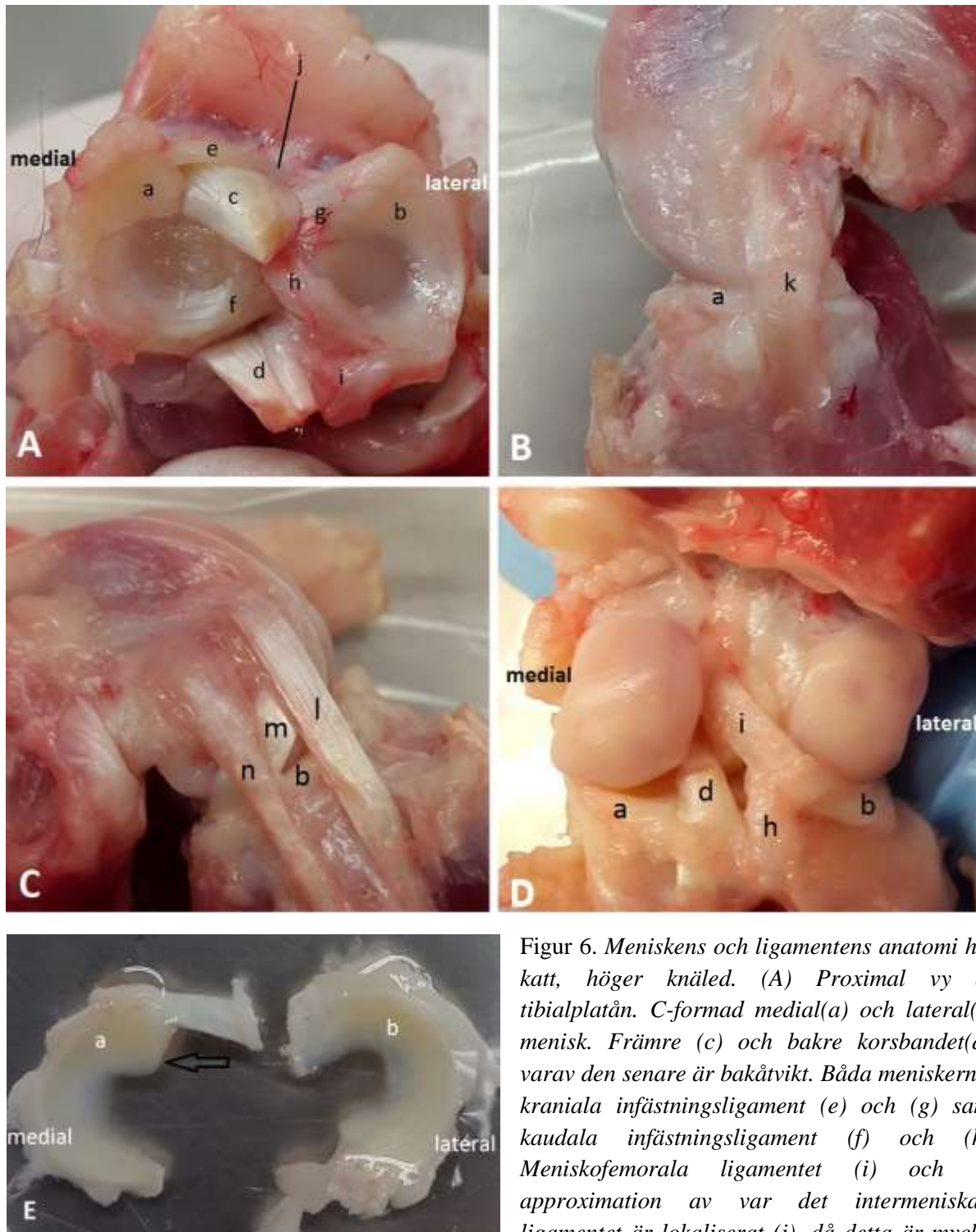
Menisker

Meniskens anatomi och funktion

En knäleds menisker utgörs av två C-formade skivor av fibrokartilaginös vävnad som är placerade mellan femurs och tibias kondyler, en medialt och en lateralt (Fig. 6A). Meniskerna är tunnare och mjukare axialt samt tjockare och mer fibrösa abaxialt vilket ger dem ett kilformat utseende i genomskärning. Meniskerna är fästa till olika punkter på tibias interkondylära eminens via ligament från sina kraniala respektive kaudala poler (Fig. 6A). Hundar kan sakna den kaudala infästningen på den laterala menisken, men om den förekommer kan infästningen finnas antingen kranialt eller kaudalt om det bakre korsbandets infästning på tibia (Pozzi & Cook 2010; Griffith et al. 2007). Denna variation omnämns inte i en artikel om kattknäets anatomi (Prosé 1984), men förekom hos två katter (Fig. 6A & D) som genomgick leddissection i början av detta examensarbete. Ett litet intermeniskalt ligament finns även mellan de kraniala polerna (Fig. 6A). Den mediala menisken har också, enligt anekdotisk erfarenhet från detta examensarbete, en axialt riktad flik från sin kraniala pol vilket inte setts beskrivet i litteraturen (Fig. 6E)

Abaxialt är meniskerna fästa till den fibrösa ledkapseln (Prosé 1984). Denna infästning är kontinuerlig på den mediala menisken jämfört med den laterala, vars kapselinfästning avbryts av poplitealsenan och senan till *m. extensor digitorum longus* (Fig. 6C). På grund av detta är den laterala menisken mer rörlig, vilket är konstaterat på hund (Pozzi & Cook 2010) men inte på katt som dock har samma anatomiska strukturer i området. Den laterala menisken har utöver dessa infästningar ett ytterligare ligament mellan sin kaudala pol och femurs interkondylära fossa, kallad det meniskofemorala ligamentet (Fig. 6D).

Meniskernas funktion är bland annat att fördela vikt, skapa bättre artikulering mellan femurs och tibias kondyler och agera stötdämpare (Pozzi & Cook 2010). De fyller även en funktion för knäledens proprioception och stabilitet samt minimerar friktion mellan de två ledytorna (Kowaleski et al. 2012).

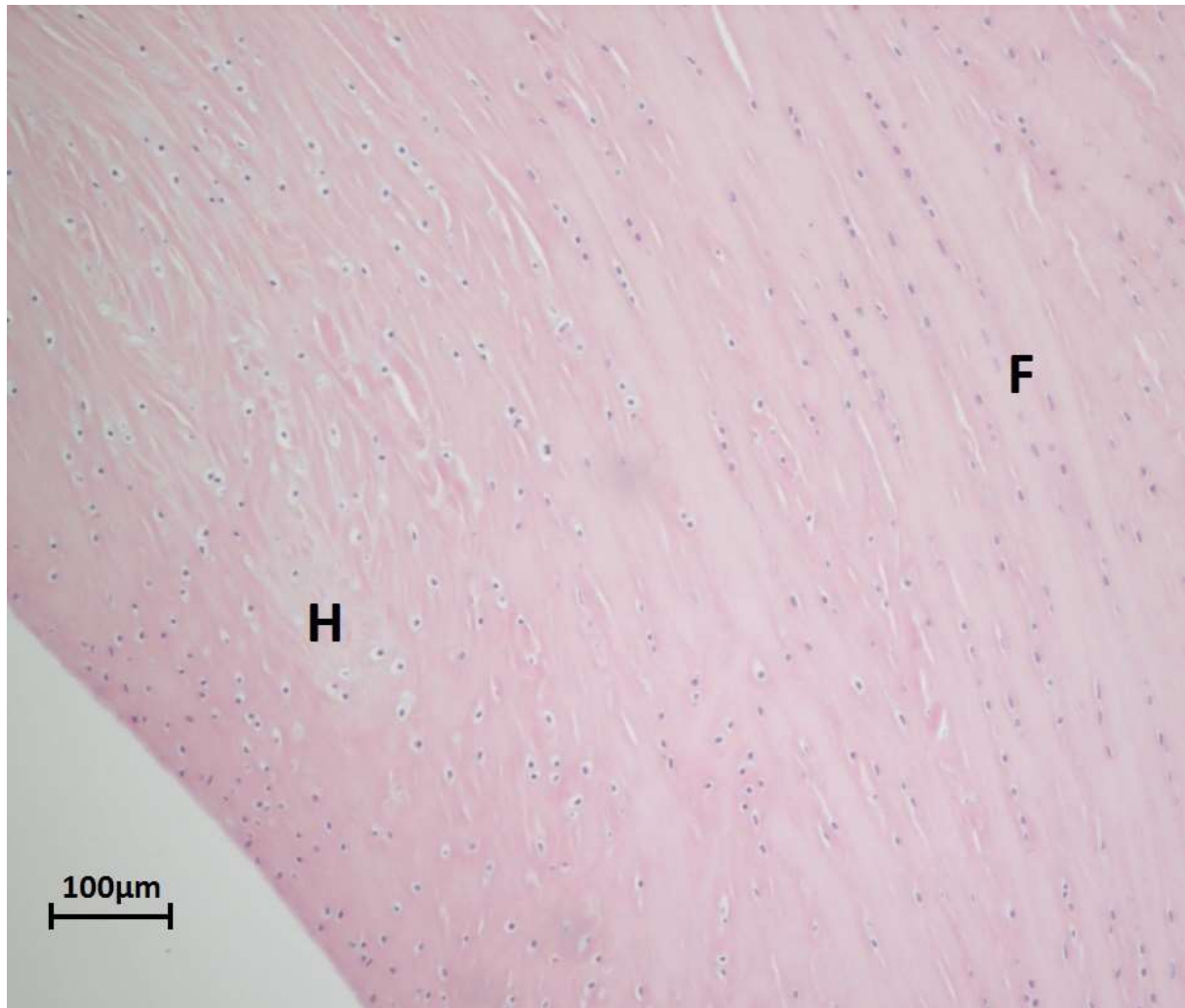


Figur 6. Meniskens och ligamentens anatomi hos katt, höger knäled. (A) Proximal vy av tibialplatån. C-formad medial(a) och lateral(b) menisk. Främre (c) och bakre korsbandet(d), varav den senare är bakåtvikt. Båda meniskernas kraniala infästningsligament (e) och (g) samt kaudala infästningsligament (f) och (h). Meniskofemorala ligamentet (i) och en approximation av var det intermeniskala ligamentet är lokaliserat (j), då detta är mycket litet. (B) Medialt kollateralligament (k) och medial menisk (a). (C) Knäledens laterala ligament. Sena till m. extensor digitorum longus (l). Poplitealsena (m). Lateral kollateralligament (n). (D) Kaudal vy av knäleden. Lateral meniskens kaudala ligament (h) har på detta exemplar en annan infästningspunkt än i bilden 6A. (E) Uttagna menisker med den mediala meniskens axiala flik (märkt med pil).

litet. (B) Medialt kollateralligament (k) och medial menisk (a). (C) Knäledens laterala ligament. Sena till m. extensor digitorum longus (l). Poplitealsena (m). Lateral kollateralligament (n). (D) Kaudal vy av knäleden. Lateral meniskens kaudala ligament (h) har på detta exemplar en annan infästningspunkt än i bilden 6A. (E) Uttagna menisker med den mediala meniskens axiala flik (märkt med pil).

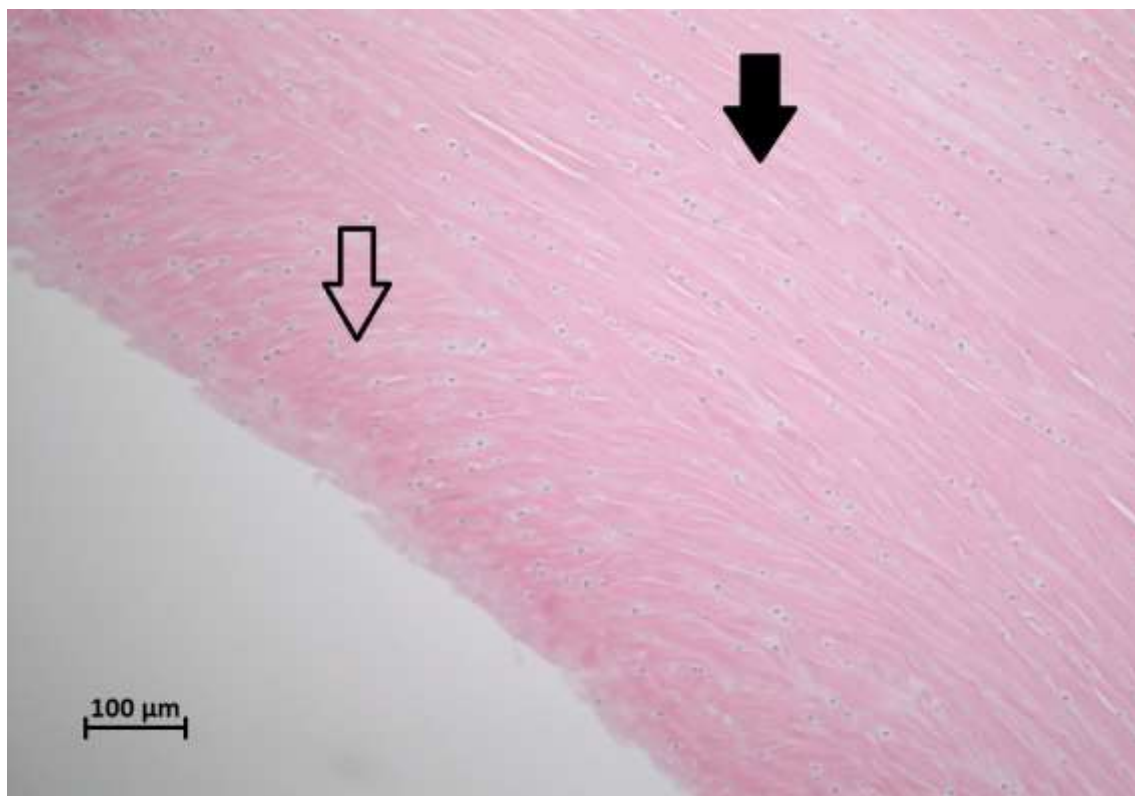
Histologisk uppbyggnad

Meniskernas histologiska uppbyggnad varierar beroende på vilken del av menisken man analyserar. Ingen histologisk analys av kattmeniskens sammansättning finns specifikt beskrivet i litteraturen. Dock utförde Ariffin (2015) ett försök att utföra immunohistokemifärgning för att utvärdera kollagensammansättningen, vilket tyvärr misslyckades. Strukturen av hundmenisker visar att de abaxiala delarna innehåller celler som liknar fibroblaster i senor och ligament medan de axialt placerade cellerna har vissa likheter med hyalina broskceller (Fig. 7) (Pozzi & Cook 2010; Kowaleski et al. 2012).



Figur 7. H&E-färgat meniskpreparat från katt. Den abaxiala vävnaden (F) påminner om fibröst brosk med rader av celler och ordnade kollagenfibrer. De mer axialt placerade cellerna (H) påminner mer om hyalint brosk.

Meniskernas extracellulära matrix består huvudsakligen av vatten, proteoglykaner och kollagen. Av den totala mängden kollagen består ca 90 % av kollagen typ I, men i de axiala delarna utgör kollagen typ II lokalt den större andelen (Pozzi & Cook 2010). Detta har sannolikt att göra med meniskens biomekaniska funktion, vilket också kan ses i struktureringen av kollagenet i olika lager. I det ytliga lagret som är i kontakt med femur och tibia ligger kollagenfibrillerna i olika riktningar och bildar ett tätt nät med rikligt med aggrekaner invävt vilket påminner om extracellulärt matrix (ECM) hos hyalint brosk. Denna uppbyggnad fyller troligen en funktion i att minska friktionen mellan meniskens yta och kondylerna vid rörelse. I de djupare (centrala) lagren inuti menisken kan en uppdelning i fibrillriktning ses mellan den axiala tredjedelen av menisken och de yttre två tredjedelarna. Innerst ligger fibrerna ordnade lite mer radiellt medan den yttre delen har kollagenfibrerna ordnade parallellt med meniskens C-form (Fig. 8). Denna kombination utgör en mycket effektiv tryckutjämnare som sprider ut trycket gradvis mot de mer fibrösa och tåliga perifera delarna (Pozzi & Cook 2010; Kowaleski et al. 2012; Sweigart et al. 2004).



Figur 8. H&E-färgat meniskpreparat från katt där den ifyllda pilen visar de parallellt ordnade kollagenfibrerna längs med meniskens C-form. Det axiala området som visas av den ihåliga pilen, visar kollagenfibrer som är mer radiellt ordnade.

Intraartikulär mineralisering

Intraartikulär mineralisering förekommer hos flera djurarter men etiologin har ännu inte identifierats med säkerhet. Huvudsakligen beror detta på att de olika observationer och analyser som gjorts har varierat mycket i histologisk uppbyggnad, förekomst i olika åldersgrupper och påverkan på omkringliggande vävnader. Formen av intraartikulär mineralisering som nämns oftast är meniskmineralisering, men många studier använder ofta termen utan att ha konfirmerat histologiskt att mineraliseringen sitter i meniskvävnaden. Meniskmineralisering förekommer både som primära och sekundära, där de primära har okänd etiologi och de sekundära beror på ledsador såsom patellaluxation och kranial korsbandsruptur (Reinke & Mughannam 1994; Whiting & Pool 1985). Voss et al. (2015) observerade att de största intraartikulära mineraliseringarna i sin studie tenderade att även ha större skador på sitt kraniala korsband, samt att mineralisering då ofta låg i den infrapatellara fettkudden istället för menisken.

Likt tidigare nämnda mineraliseringstyper råder en viss begreppsblandning avseende beskrivningar av förändringen. Det är inte ovanligt att bland annat ”mineralisering”, ”kalcifikation”, ”ossifikation”, ”synovialt osteochondrom” och ”ossikel” används med avseende på histologiskt likartade förändringar. Det omvända problemet är också förekommande, då histologiskt olika strukturer benämns med samma ord, vilket kan bidra till missförstånd vid genomgång av befintlig litteratur. En ytterligare problematik med röntgen är att då menisker har mjukdelstäthet och inte kan definieras tydligt från andra mjukdelstätheter i leden så är det omöjligt att veta säkert om en mineralisering sitter i menisken om man inte öppnat leden eller gjort en histologisk undersökning. Om katten dessutom har samtidig synovit eller annan mjukdelsförtjockning i leden försvåras meniskdefinieringen ytterligare.

Den huvudsakliga lokaliseringen av histologiskt konfirmerade meniskmineraliseringar hos katt är den mediala meniskens kraniala pol, och dessa syns ofta på röntgen (Freire et al. 2010; Lascelles et al. 2010; Beale 2009) (Fig. 9). Hos katter är medial meniskmineralisering ett relativt vanligt fynd, men har även rapporterats hos bland annat vilda kattdjur, hundar, gnagare och människa (Freire et al. 2011; Reinke & Mughannam 1994; Weber 1998; Pedersen 1949; Kato et al. 2007).



Figur 9. Mediolateral röntgenbild på en knäled med sannolik meniskmineralisering (pil) hos katt. Den absolut vanligaste lokaliseringen är i den mediala meniskens kraniala pol vilket ofta ses på mediolaterala projektioner, dock kan placering inte utrönas baserat på en ensam projektion. Bilden illustrerar även en viss summation av mineraliseringen över kondylen, vilket kan försvåra storleksbedömning. Även om lokaliseringen är typisk så kan det inte helt säkert benämnas meniskmineralisering om det inte konfirmerats via t ex histopatologi eller separat röntgenundersökning av uttagna menisker.

Förekomst hos olika djurarter

I dagsläget är åsikterna delade huruvida mineraliseringen är en patologisk process som svar på ledsjukdom och slitage (Freire et al. 2010; Ariffin 2015; Reinke & Mughannam 1994), eller en fysiologisk struktur eller vestigial rest av ett sesamoidben (Ganey et al. 1994; Walker et al. 2002; Whiting & Pool 1985; Clarke et al. 2005).

Ett flertal studier som gjorts på vilda kattdjur såsom lejon, tiger och puma har visat att dessa kattdjur ofta har en väl strukturerad trabekulär benbildning i den mediala meniskens kraniala pol. Inga radiologiska, makroskopiska eller mikroskopiska fynd av osteoartrit eller annan ledpatologi beskrevs hos djuren. Författarna drog slutsatsen att denna benbildning sannolikt var ett fysiologisk sesamoidben eller en vestigial struktur som skulle kunna ha en funktion för meniskrörelse och stabilitet vid hög knäledsbelastning (Ganey et al. 1994; Walker et al. 2002; Cervený & Paral 1995). Hos ett tigerexemplar fanns dessutom en tydlig längsgående fåra i femurkondylen över mineraliseringen, men utan tydlig broskskada, vilket tolkades som en

fysiologisk artikulering (Ganey et al. 1994; Walker et al. 2002). Att mineralisering i form av benvävnad kan utgöra en normal anatomisk struktur inuti menisken har även rapporterats hos andra djurslag såsom råttor, marsvin, hamster och dvärgtigerkatt (*Leopardus tigrinus*). Mineraliseringarna har då benämnts lunula, ossikel eller *os meniscus* (Pedersen 1949; Walker et al. 2002; Cervený & Paral 1995; Rahal et al. 2013).

I flera studier om meniskmineralisering hos tamkatter har majoriteten av mineraliseringar beskrivits som en möjlig följd eller orsak till en degenerativ ledprocess såsom osteoartrit (Freire et al. 2010; Ariffin 2015; Freire et al. 2011). Detta är en relativt ny observation då intraartikulär mineralisering som meniskmineralisering hos katter länge ansetts vara ett bifynd utan klinisk betydelse (Whiting & Pool 1985; Allan 2000; Mahoney 2012). Meniskmineralisering har dock tidigare beskrivits som patologisk process hos hundar och människor (Reinke & Mughannam 1994; Weber 1998; Kato et al. 2007; Ogden et al. 1994).

Vid histologisk undersökning av mineralisering i menisken har de varierat i storlek och de minsta består oftast av lokala foci av broskmetaplasia med lokal mineralinlagring utan någon tydlig strukturering (Freire et al. 2010). Större mineraliseringar har oftare ett mer ordnat utseende där de strukturerats till lamellärt ben med trabekler och benmärg centralt. Dessa foci har i en studie beskrivits som omgivna av broskmetaplasia och mineralinlagringar i olika stadier, vilket indikerar en omvandlingsprocess som sker gradvis (Freire et al. 2010). Hur denna mineralisering eller ossifikation går till är dock fortfarande okänt.

Förekomst av meniskmineralisering hos katter har även visats öka med åldern. Betydelsen av detta samband i en eventuell korrelation med ledpatologi är dock osäker då osteoartrit är vanligare hos äldre djur (Freire et al. 2010; Ariffin 2015).

Osteoartrit hos katt

Osteoartrit är en vanlig kronisk ledåkomma hos äldre katter som vanligtvis yttrar sig som stelhet, motvillighet att hoppa, minskad leklust samt personlighets- och beteendeförändringar (Klinck et al. 2012; Slingerland et al. 2011; Bennett & Morton 2009). Histologiskt ses i ledbrosket extracellulära matrix fibrillering och förlust, hypocellularitet och hypertrofi av broskcellerna. Samtidig ledinflammation med synovit kan ses, vilket anses förvärra brosknedbrytningen och leder till smärta och svullnad. Vid röntgenundersökning av osteoartritdrabbade leder kan olika grad av osteofyter, entesiofyter och subchondral skleros ses, samt en ökad volym av mjukdelstäthet i leden p.g.a. ledeffusion och svullnad (Klinck et al. 2012; Slingerland et al. 2011; Clarke & Bennett 2006; Bennett & Morton 2009).

Prevalensen av osteoartrit i extremitetsleder rapporterades i en studie med 292 katter i varierande åldrar ligga på 22 % (Godfrey 2005), en annan studie på katter över 12 år visade på en prevalens på 64 % (Hardie et al. 2002) och Slingerland et al. (2011) påvisade 61 % hos katter över 6 år. Studier har även gjorts på prevalensen av radiologisk osteoartrit i knäleden, vilket har funnits variera mellan 63 % (Lascelles et al. 2010), 65 % (Freire et al. 2011) och 86,2 % (Ariffin 2015). Dessa prevalenser kommer från relativt nya studier vars resultat indikerar att osteoartrit är mycket vanligare på katt än vad man tidigare trott. En trolig anledning till att osteoartrit inte

uppmärksammas är att katter inte alltid uppvisar hälta vid osteoartrit, något som räknats som ett primärt kliniskt tecken vid diagnostik på hundar (Hardie et al. 2002; Lascelles 2010; Clarke & Bennett 2006; Bennet 2010). En orsak till detta kan vara att katter, som är lätta och rörliga, lättare kan kompensera för ortopedisk smärta och stelhet än vad hundar kan vilket försvårar detektion (Slingerland et al. 2011; Harasen & Little 2012). Crepitus, ledfullnad och ledkapselförtjockning har inte heller visat sig vara tillförlitliga tecken på osteoartrit hos katt (Clarke & Bennett 2006; Allan 2000; Bennet 2010).

Koppling mellan intraartikulär mineralisering och osteoartrit

I dagsläget finns flera teorier om vad som orsakar primär mineralisering av menisker. Något som diskuteras är att katter kan visa en större benägenhet att bilda mineralisering (ej osteofyter) i anslutning till leder än andra arter, speciellt efter kroniska inflammatoriska reaktioner (Harasen & Little 2012; Allan 2000). Ett flertal studier har hittat samband med utveckling av degenerativ ledsjukdom såsom osteoartrit vilket har väckt frågeställningen om mineralisering av menisken skulle kunna vara en tidig diagnostisk markör för osteoartrit på katt (Freire et al. 2010; Ariffin 2015; Bennet 2010; Lascelles 2010).

En svårighet med att bevisa koppling till osteoartrit är bland annat att intraartikulär mineralisering och osteoartrit inte alltid ger tydlig smärta i lederna (Lascelles et al. 2007; Freire et al. 2010). Graden av meniskmineralisering har visat sig inte vara signifikant kopplad till graden av kliniskt bedömd smärta i leden vid palpation (Freire et al. 2010). Dock är även detta svårt att uttala sig säkert om då katters smärttecken kan vara mycket svårtolkade eller så diskreta att de inte upptäcks (Lascelles 2010; Freire et al. 2010; Bennett & Morton 2009). Utöver detta saknas vanligen histologiska studier av ledbrosk i samband med förekomst av intraartikulär mineralisering, vilket skulle bidra med utökad kunskap av hur leden påverkas av mineraliseringar av olika storlek.

Freire et al (2010) och Ariffin (2015) rapporterade fall av makroskopiska brosklesioner där det enda radiologiska fyndet var intraartikulär mineralisering och att förekomst av strukturen ökade med åldern. I samma studie hittades även en god korrelation mellan procentuell mineraliserad meniskarea och graden av brosklesioner på de mediala femur- och tibiakondylerna.

Ny forskning inom humanmedicinen har påvisat ett mycket intressant samband mellan osteoartrit i multipla fingerleder och medial meniskskada. Trots att lokaliseringen av de olika lesionerna är väl skild så visade sig sambandet vara starkt. Detta talar för en genetisk predisponering eller en vanligt förekommande riskfaktor i miljön för utveckling av dessa ledlesioner, vilket potentiellt även skulle kunna appliceras på djur (Englund et al. 2015). Ett intressant samband hittades även i en studie av Ariffin (2015) där förekomst av mineraliserad medial fabell hos tamkatter korrelerade med förekomst av kraftiga brosklesioner och bedömdes som en indikator på osteoartrit. Liknande samband har även funnits hos människa, då med avseende på mineraliserad lateral fabell (Pritchett 1984).

MATERIAL OCH METODER

Undersökningsmaterial

Studiematerialet utgjordes av befintligt material från 29 avlivade katter som deltog i en osteoartritstudie, där merparten inkommit för obduktion till följd av sjukdom. Dessa 29 katter hade vid examensarbetets början redan genomgått röntgen- och DT-undersökning samt histologisk analys av ledbrösket. Åldersspannet för osteoartrit-och röntgendelen av studien var 2 till 23 år. Av de 29 katterna var 16 kastrerade hanar, 10 kastrerade honor och 3 intakta honor. Inga intakta hanar fanns med i materialet.

Under examensarbetes gång dissekerades och röntgades höger och vänster knäled från fem andra katter. Syftet med dissektionen var att fotografera och illustrera anatomiska och histologiska strukturer relevanta för detta arbete (både normala och patologiska strukturer) samt att komplettera det befintliga materialet avseende antalet knäleder med intraartikulära mineraliseringar. Tre katter hade intraartikulära mineraliseringar och genomgick DT-undersökning av båda knälederna. Samtliga var kastrerade hanar. Resultaten från höger knäled för två av de tre katterna inkluderades för de statistiska analyser som gjordes för DT vilket utökade materialet till 31 katter för den delen av studien.

Osteoartrit- och röntgenstudien

Inklusionskriterierna i osteoartritstudien utgjordes av

- > 1 års ålder
- Djurägargodkännande för kattens deltagande i forskning
- Fyra extremiteter

Exklusionskriterierna i osteoartritstudien utgjordes av

- Död/avlivad över 48 timmar sedan
- Scottish fold-ras
- Misstänkt eller konfirmerad autoimmun sjukdom
- Akut ledtrauma
- Neoplastiska förändringar i leder

Kön och ålder registrerades. Katterna genomgick röntgenundersökning av höger knäled (29 st) och helkropp-DT. Resultat från en annan studies (osteoartritstudie) histologiska bedömning av ledbröskskador (H&E-färgade preparat) från femurkondylerna, tibias laterala och mediala kondyl (både hyalint och fibröst brosk) och patellas ledbrösk (men ej menisker) användes i detta examensarbete. Dessa histologiska förändringar hade i osteoartritstudien graderats med en 7-gradig skala (Pritzker et al. 2006). Denna skala kan förenklat beskrivas som:

- Grad 0 – normalt och intakt ledbrösk
- Grad 1 – intakt ledbröskyta men med t ex ödem i matrix och cellhypertrofi
- Grad 2 – diskontinuitet i ledbröskytan med t ex djupare matrixfibrillering
- Grad 3 – vertikala fissurer i ledbrösket
- Grad 4 – broskerosion
- Grad 5 – broskulceration (denudation/avskalning)
- Grad 6 – broskulceration med deformation och benremodellering

I detta examensarbete lades graderingarna för de olika broskområdena ihop för varje knäled till en total knäledsgradering för histologisk osteoartrit. Detta gjordes genom att ledens sammanlagda gradering av de olika broskområdena dividerades med antal analyserade broskområden för att få ut ett graderingsmedelvärde för varje led. Graderingsmedelvärdet avrundades sedan till heltal (0 – 6) som sedan delades upp enligt:

- Grad 0 => Normal
- Grad 1-2 => Lindrig osteoartitförändring
- Grad 3-4 => Måttlig osteoartitförändring
- Grad 5-6 => Kraftig osteoartitförändring

Bilddiagnostiska metoder

Denna studie utfördes genom utvärdering av röntgen- och DT-bilder av höger knäled från 31 katter för att detektera och mäta intraartikulär mineralisering, sesamoidben och femurvolym. Femurvolym användes som ett mått på kattens storlek. På röntgenbildernas mediolateralprojektioner mättes även mineraliseringarnas största linjära mått samt area för att kunna jämföra storleken med andra studiers storleksmätning av mineraliseringarna (Ariffin 2015; Voss et al. 2015).

Avläsning och insamling av data från bilderna utfördes av författaren (AC) och erfaren veterinärbilddiagnostiker (ChL) (Tabell 2). DT-bilderna avlästes före röntgenbilderna.

Tabell 2. Översikt insamlad data från datortomografi (DT)- och röntgenbilder

Insamlad data	Modalitet
Femurvolym (höger knäled)*	DT
Sesamoidben (höger knäled) [‡]	
Längd (proximalt till distalt) [†]	DT och röntgen
Bredd (medialt till lateralt) [†]	DT
Djup (kranialt till kaudalt) [†]	DT och röntgen
Volym ⁺	DT
Förekomst av mineraliserad medial fabell	DT
Intraartikulär mineralisering	
Förekomst (höger knäled)	DT och röntgen
Största linjära mått (mediolateral projektion)	Röntgen
Längd (proximalt till distalt)	DT och röntgen
Bredd (medialt till lateralt)	DT och röntgen
Djup (kranialt till kaudalt)	DT och röntgen
Volym ⁺	DT
Area (mediolateral projektion & sagittal vy)	Röntgen
Högsta registrerade Hounsfield Unit (HU)	DT
Lokalisering	DT och röntgen

* volym beräknad genom multiplicering av längd, bredd och djup

[‡] medial och lateral fabell, poplitealt sesamoidben samt patella

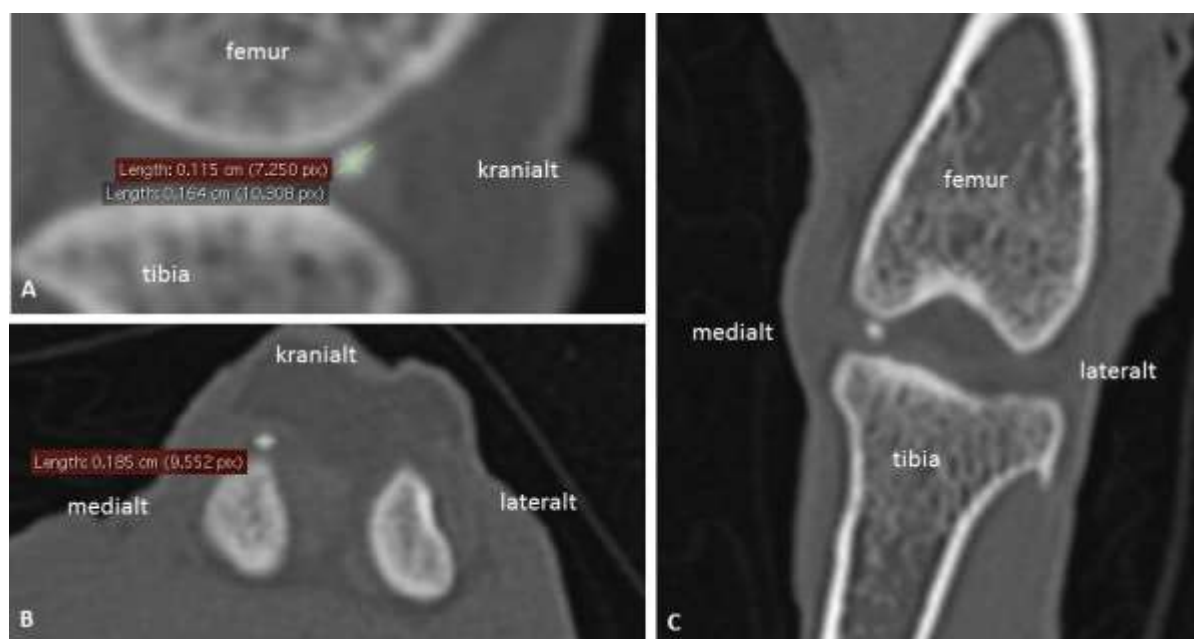
[†] ej patella

⁺ volym beräknad genom handmarkerade "regions of interest" (ROI) i OsiriX

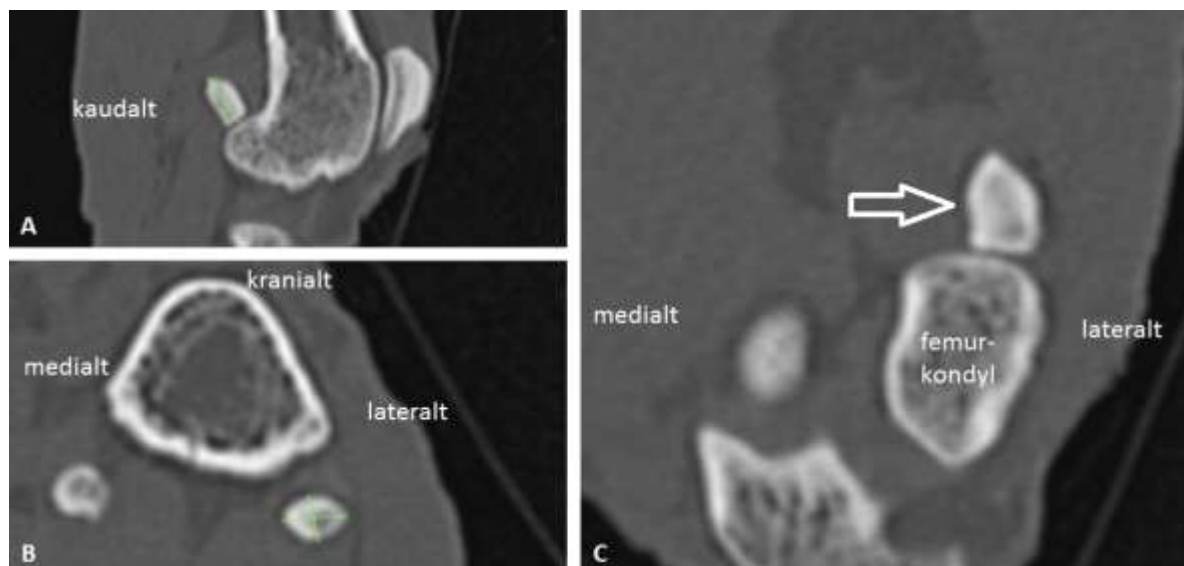
Datortomografi

Datortomografibilderna togs med 64-snitts DT (Definition, Siemens Medical Systems, Erlangen, Tyskland) med inställningarna 250 kV, 160 mAs, skivtjocklek 600 µm, slice increment 0,3 mm, focal spot 1,2 mm, high resolution kernel (B70s), field of view (FOV) 156-249 mm. Vid DT-undersökningen placerades katterna liggande på sternum med bakben utsträckta kaudalt och framben utsträckta kranialt. Minsta tillförlitliga mätning på DT var begränsad till 0,6 mm på grund av voxelstorlek och "partial volume averaging". Mineraliseringar under en voxels storlek räknades som likstora med voxelns volym (0,45x0,45x0,6 mm).

Avläsarna (AC och ChL) var blindade med avseende på katternas identitet. Vid avläsning användes fönsternivå (WL) 700 HU och fönsterbredd (WW) 4000 HU. Bilderna avlästes med hjälp av tredimensionell multiplanar rekonstruktion (3D-MPR) vilket konstruerades utifrån "maximal intensity projection" (MIP). Volymen av både intraartikulär mineralisering (Fig. 10A-C) och sesamoidben (Fig. 11A-C) beräknades först uppskattningsvis genom multiplicering av längd, bredd och djup. Femurlängden mättes på DT i dorsalplanbilden från den mest proximala punkten på *trochanter major* till den mest distala punkten på femurs laterala kondyl (Fig. 12A-C).



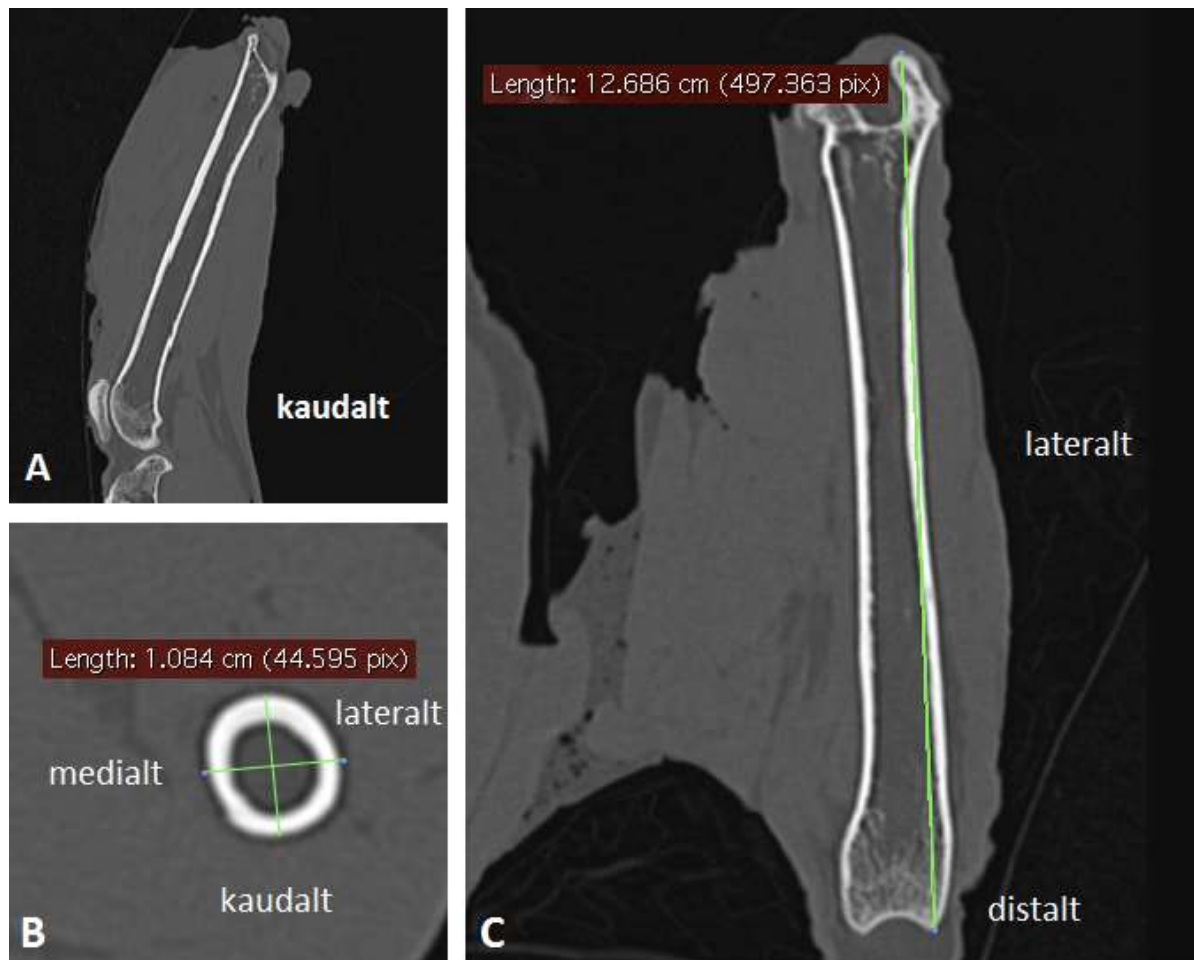
Figur 10. Tredimensionell multiplanar rekonstruktion (3D-MPR) av höger knäled från en katt med intraartikulär mineralisering i det kranio-mediala området inuti knäleden. (A) och (B) visar hur mätningarna av mineraliseringen utfördes i sagittal- respektive transversalplansbilder av det kranio-mediala området. (C) visar en dorsalplansbild av det kraniala området i knäleden där inga mätningar utfördes.



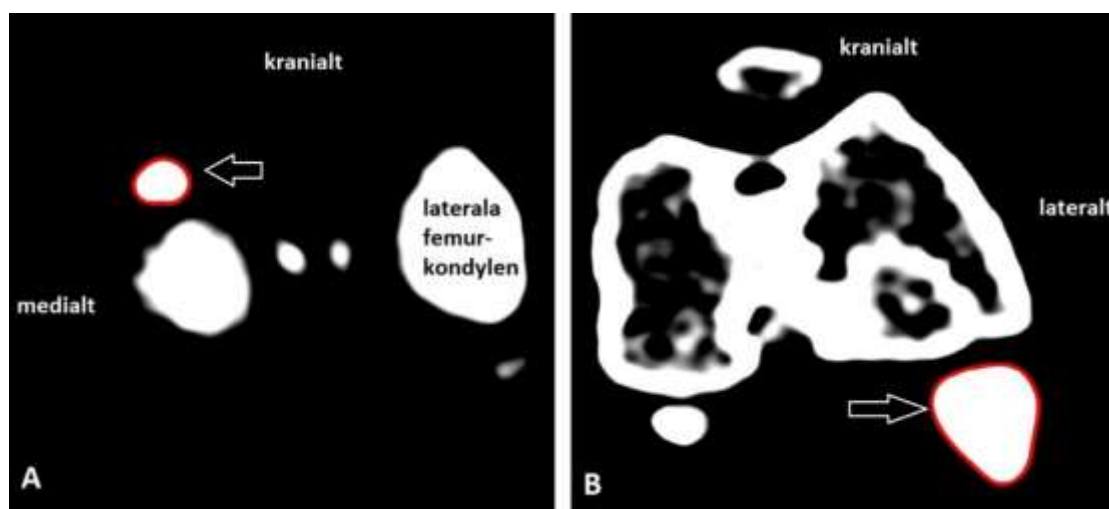
Figur 11. Tredimensionell multiplanar rekonstruktion (3D-MPR) av höger knäled från en katt vid mätning av laterala fabellen. (A) visar sagittalplans-, (B) transversalplans- och (C) dorsalplansbilder av den laterala fabellen.

Under arbetets gång uppkom en frågeställning om huruvida den approximativa volymberäkningsmetoden gick att använda i de statistiska analyserna då multiplikation av linjära mått i tre plan ger volymen av ett rätblock. Då de flesta mineraliseringar och sesamoidben som mättes mer liknade sfärer uppkom ett behov av att verifiera den approximativa volymberäkningen. Beslut togs därför att även utföra en mer exakt volymberäkning med hjälp av den manuella "regions of interest" (ROI)-markeringsfunktionen i OsiriX och sedan jämföra metoderna statistiskt.

Volymen beräknades sedan återigen med hjälp av den manuella ROI-metoden genom att markera utefter kanten på mineraliseringarna i varje transversalplan (Fig. 13A & B). Genom att använda funktionen "compute ROI volume" i OsiriX kunde ett mer exakt beräknat volymvärde erhållas. Vid den senare mätningen användes WL 450 HU och WW 200 HU för att utlinjera mineraliseringens begränsning, vilket utfördes av erfaren veterinärbilddiagnostiker (ChL). Vid förekomst av multipel mineralisering räknades total volym ihop.



Figur 12. Tredimensionell multiplanar rekonstruktion (3D-MPR) av höger femur från katt. (A) midsagittalplan, (B) transversalplan på mitten av diafysen med två mätningar tvärsöver femur och (C) mittdorsalplan där femurlängden mäts från den mest proximala punkten på trochanter major till den mest distala punkten på den laterala femurkondylen.



Figur 13. Datortomografibilder i transversalplan av höger knäled från katt, visat med fönsternivå (WL) 450 HU och fönsterbredd (WW) 200 HU. (A) visar intraartikulär mineralisering som utlinjerats med den manuella ROI-metoden (röd utlinjering). (B) visar den laterala fabellen som utlinjerats på samma sätt.

Röntgen

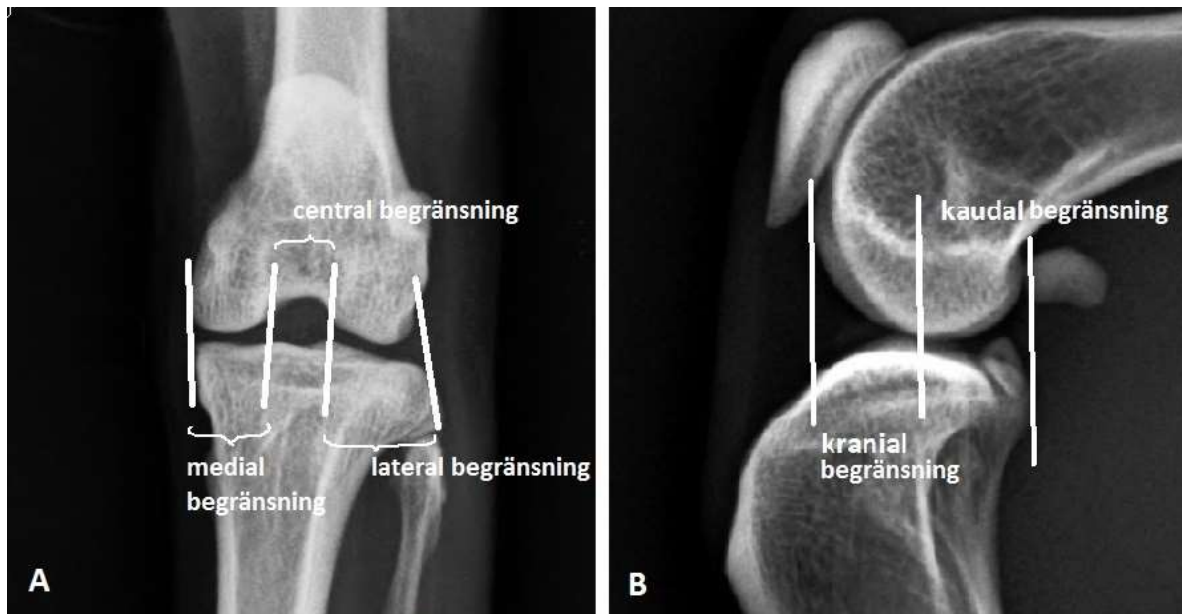
För röntgenbilderna användes ett digitalt röntgensystem (Adora RF, Nordisk Røntgen Teknik A/S, Hasselager, Danmark). Bilderna togs i 50 kV, 2,5-5 mAs, på en bildplatta 18 x 24 cm (FCR XG-1, IP-cassette type C, Fujifilm Europe, Düsseldorf, Tyskland) och framkallade med en digital bildplatteframkallare (FCR XG-1, Fujifilm Europe, Düsseldorf, Tyskland). Projektionerna som togs var kaudokranial samt mediolateral.

Mätningarna utfördes av tre personer (AC, ChL och LL), där alla var blindade med avseende på katternas identitet. Bedömningen om intraartikulär mineralisering förekom eller inte var subjektiv. Mediolateral och kaudokranial projektion avlästes. Avläsarna kom sedan via konsensus överens om vilka röntgenbilder som hade synliga mineraliseringar genom att gå igenom respektive knäleds båda projektioner tillsammans. På röntgenbilderna begränsades mätningarna till mineraliseringar med storlek $> 0,5$ mm i diameter. Detta på grund av att pixelstorleken var 0,1 mm, och "partial volume averaging"-artefakter kunde på så sätt minimeras. Mineralisering $< 0,5$ mm registrerades som 0,5 mm. Mineraliseringar mättes i två plan som utgjordes av det längsta måttet samt ett mått i 90° vinkel mot det första. Medelvärdet av avläsarnas olika mätvärden användes sedan för att beräkna mineraliseringens area, dock bara från mediolateral projektions mätvärden.

Innan bildavläsningen fastställdes en anatomisk uppdelning av lederna på både röntgen- och DT-bilderna för att underlätta beskrivning av mineraliseringslokalisering. Uppdelningen var subjektiv och approximativ då både röntgenprojektionernas raket och anatomiska hållpunkter varierade från individ till individ. I kaudokranial projektion delades leden upp i lateral, medial och central avdelning utefter kondylernas begränsning (Fig. 14A). Mineralisering i den centrala avdelningen räknades inte som mineralisering i menisken då området främst består av korsband, ligament och deras infästningar. Mineralisering lokaliserad utanför kondylernas laterala och mediala begränsning räknades inte heller som mineralisering i menisken.

I mediolateral projektion delades leden upp i en kranial och kaudal region genom att en linje drogs från mitten av femurs kondyl till mitten av tibias kondyl (Fig 14B). En kranial begränsning för normal meniskstorlek drogs mellan tibialplatåns kraniala kant och femurkondylens kraniala begränsning. Den kaudala begränsningen utgjordes av en linje dragen mellan tibiaplatåns kaudala kant och femurkondylernas kaudala begränsning. För detektion av mineralisering på DT sattes 350 HU som nedre gräns baserat på trabekulärt bens nedre attenueringsgräns (Preston et al. 2015).

För bildanalys, linjära mätningar och volymmätningar användes mjukvara för DICOM-bildavläsning (OsiriX v 4.1.1, Pixmeo, Geneve, Schweiz).



Figur 14. (A) visar de approximativt utritande begränsningarna för kaudokraniala projektioner och, (B) för mediolaterala projektioner.

Statistiska analyser

För statistiska beräkningar av korrelationer mellan volym och förekomst av intraartikulär mineralisering och volym av femur, lateral fabell, medial fabell, poplitealesamoid och patella användes olika metoder (Tabell 3). Vid analys av linjärt samband mellan volymdata och icke-tredimensionella parametrar användes kubikroten av volymvärdet för att kompensera för varierande tillväxtgrad i olika plan. Statistikprogrammet som användes var Minitab (v 17, Minitab Inc., Coventry, Storbritannien). Signifikansnivå på 0,05 användes.

Vid bedömning av styrkan på sambanden genom korrelationskoefficienter (r) bedömdes $r = 0 - 0,19$ som väldigt svag korrelation, $0,2 - 0,39$ svag, $0,4 - 0,59$ medelstark, $0,6 - 0,79$ stark och $0,8 - 1$ mycket stark (Swinscow 1997).

Tabell 3. Översikt över analyserade parametrar och använda statistiska analyser

Parameter 1	Parameter 2	Statistisk metod
Mineraliseringsvolym (mm ³)* †	Morfologisk osteoartritleSION (ja/nej)	Binär logistisk regression
	Morfologiska osteoartritleSIONer - olika graderingsuppdelningar	Binär & ordinal logistisk regression
	Volym enskilda sesamoidben - lateral och medial* fabell, patella, popliteal sesamoid (mm ³) †	Linjär regression
	Femurvolym (mm ³) [¤]	Linjär regression
	Ålder (år)	Linjär regression
	Mineraliseringsvolym (mm ³)* [¤]	Spearman's korrelation
Förekomst mineralisering på DT	Förekomst mineraliserad medial fabell (ja/nej)	Fisher's exakta test
	Volym enskilda sesamoidben - lateral och medial* fabell, patella, popliteal sesamoid (mm ³) †	T-test (tvåsidigt)
	Ålder (år)	Binär logistisk regression
	Morfologiska osteoartritleSIONer - olika graderingsuppdelningar	Fisher's exakta test
	Förekomst mineralisering på röntgen (ja/nej)	Fisher's exakta test
	Kön	Binär logistisk regression
Mineraliseringsarea sagittalplan DT (mm ²)	Mineraliseringsarea mediolateralvy röntgen (mm ²)	Parat t-test
Femurvolym (mm ³) [¤]	Volym enskilda sesamoidben - lateral och medial* fabell, patella, popliteal sesamoid (mm ³) †	Linjär regression
Volym medial fabell (mm ³)* †	Volym lateral fabell (mm ³) †	Linjär regression
	Volym popliteal sesamoid (mm ³) †	Linjär regression
	Volym patella (mm ³) †	Linjär regression
Volym lateral fabell (mm ³) †	Volym popliteal sesamoid (mm ³) †	Linjär regression
	Volym patella (mm ³) †	Linjär regression
Volym patella (mm ³) †	Volym popliteal sesamoid (mm ³) †	Linjär regression
Volym enskilda sesamoidben - lateral och medial* fabell, popliteal sesamoid (mm ³) †	Volym enskilda sesamoidben (mm ³) [¤]	Parat t-test
Förekomst mineraliserad medial fabell	Morfologisk osteoartritleSION (normal-kraftig)	Binär logistisk regression

* ej normalfördelad data

[¤] volymberäkningsmetod

† volym beräknad med manuell ROI-metod

RESULTAT

Förekomst och lokalisation av intraartikulär mineralisering

Intraartikulär mineralisering i höger knä kunde detekteras på DT-bilderna hos 14 av 31 katter. Inget signifikant samband kunde hittas mellan förekomst av intraartikulär mineralisering och kön eller ålder på katterna. Medelåldern och åldersfördelningen var ungefär densamma oavsett förekomst av intraartikulär mineralisering (Tabell 4). Intraartikulära mineraliseringar kunde ses som tydliga mineraltätheter på DT-bilderna (Fig. 15A-C), varav alla var lokaliserade kranialt och medialt innanför de utsatta meniskbegränsningarna. Medelvärde för de intraartikulära mineraliseringars volym var $2,14 \text{ mm}^3$ och hade ett spann på $0,12 \text{ mm}^3$ till $10,09 \text{ mm}^3$. Vid jämförelse av mineraliseringsstorlek i detta examensarbete med storleksmått och kategorierna från Ariffin (2015) och Voss et al. (2015) visade sig mineraliseringarna i examensarbetet vara betydligt mindre. I Ariffin (2015) användes det största linjära måttet av mineraliseringen på mediolateral röntgenprojektion som mätmetod. När samma metod användes i detta examensarbete hade mineraliseringarna ett spann på 0,64 mm till 2,35 mm och ett medelvärde på 1,35 mm. Enbart en av mineraliseringarna hade ett linjärt mått $>2 \text{ mm}$.

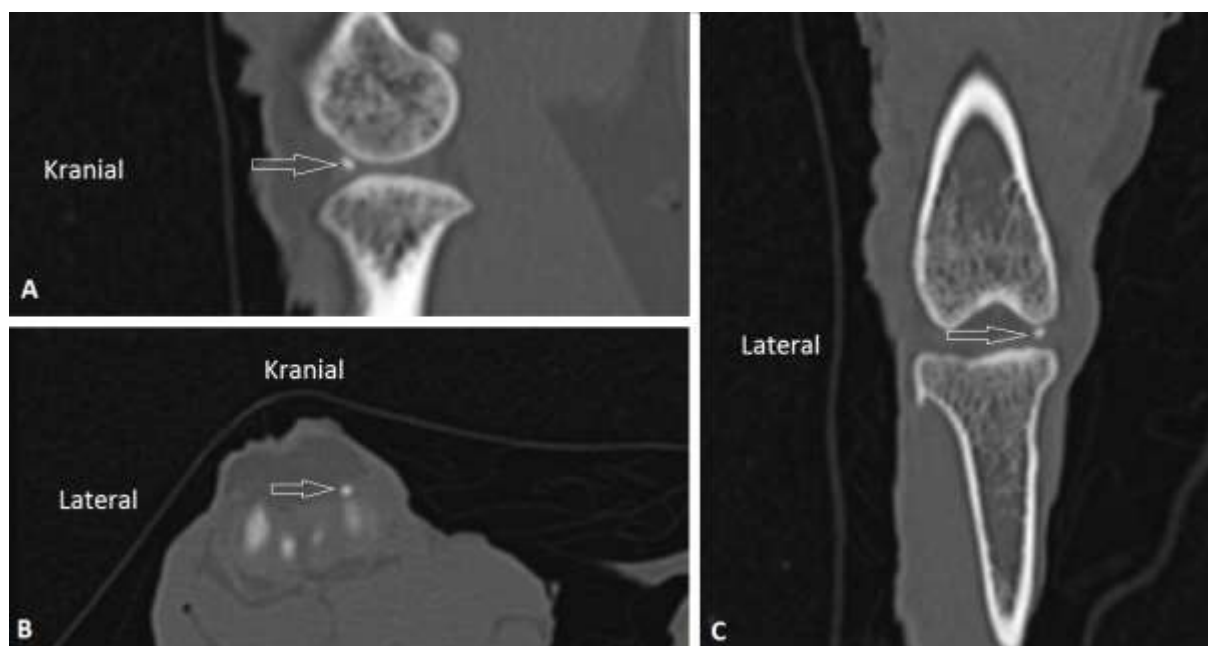
Vid jämförelse av mineraliseringsstorlek med storleksmått från Voss et al. (2015), som mätte mineraliseringarnas area på mediolateral röntgenprojektion, var examensarbetets mineraliseringar mindre i storlek. Spannet var $0,32 \text{ mm}^2$ till $3,1 \text{ mm}^2$ och medelvärde var $1,2 \text{ mm}^2$. Enbart tre katter hade mineraliseringar i spannet $2,25 - 6,25 \text{ mm}^2$.

En av de fem senare undersökta katterna i examensarbetet uppvisade en tydlig intraartikulär mineralisering på DT-bilder ($2,13 \text{ mm}^3$), röntgenbilder samt på de histopatologiska meniskpreparaten. Den histologiska undersökningen konfirmerade att mineraliseringen hos denna katt var lokaliserad inuti menisken (Fig. 15 & 16).

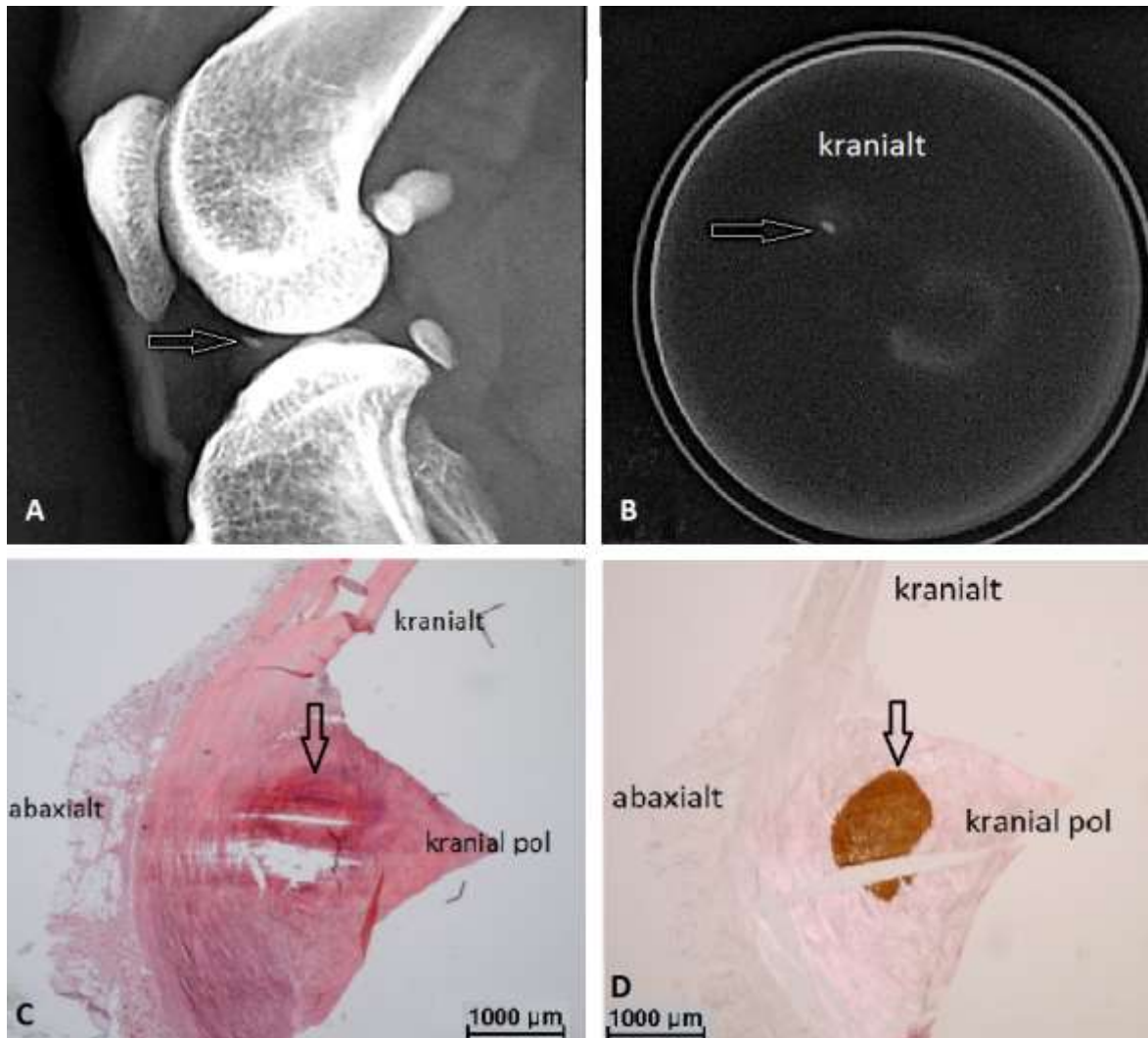
Tabell 4. Spridning och medelvärde av ålder samt kön vid förekomst av intraartikulär mineralisering detekterad med datortomografi (DT)

Intraartikulär mineralisering	Ålder (år)		Kön		
	Spann	\bar{x}	Honor	Kastrerade honor	Kastrerade hanar
Detekterad (n=14)	3-23	10,7	2	5	7
Inte detekterad (n=17)	2-19	11,6	1	5	11

\bar{x} = medelvärde

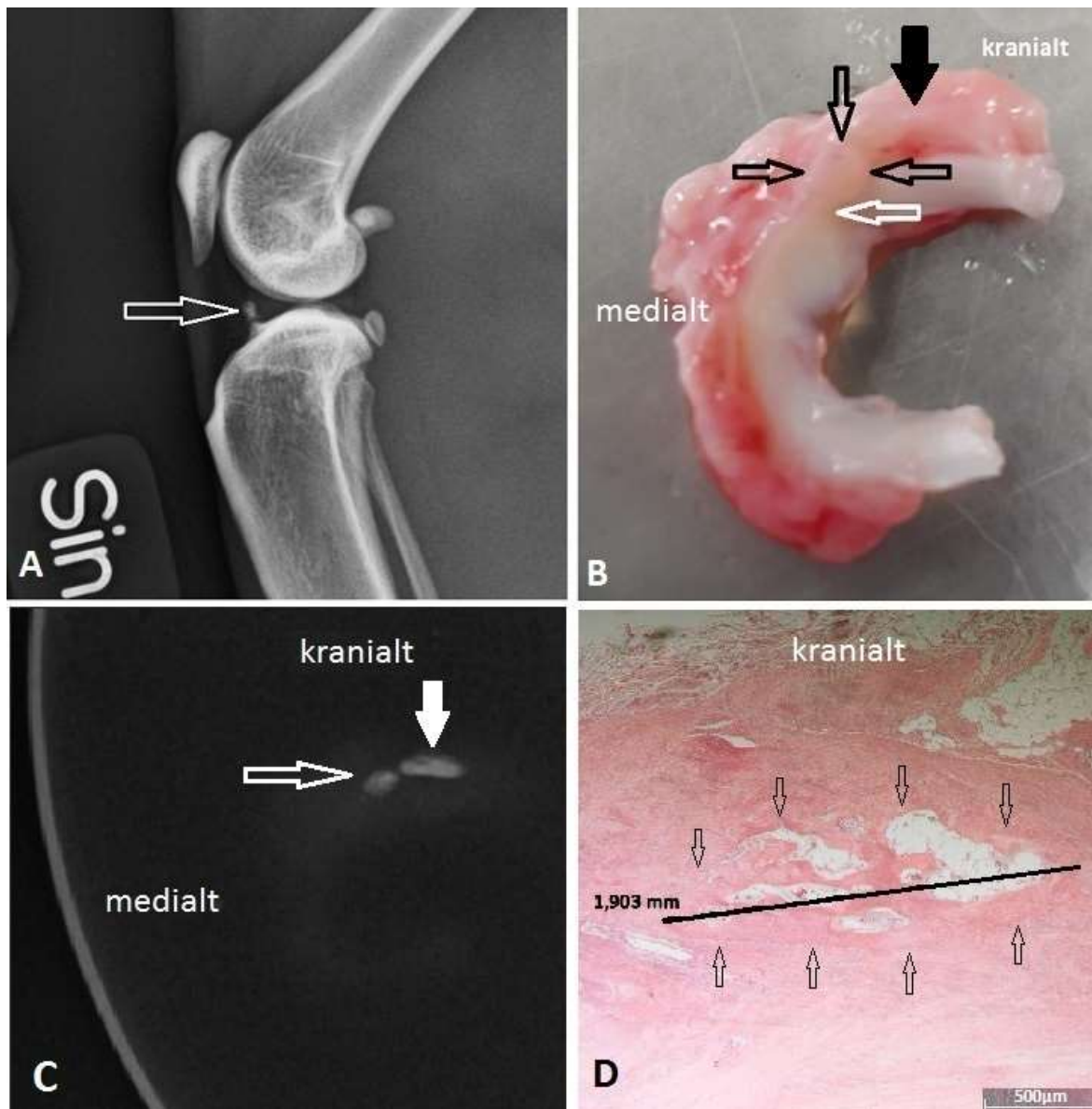


Figur 15. Tredimensionell multiplanar rekonstruktion (3D-MPR) av höger knäled i tre olika plan: (A) sagittalplansbild av det mediala området av knäleden, (B) transversalplansbild i nivå med meniskerna och (C) dorsalplansbild av det kraniala området i knäleden. Pilen markerar den intraartikulära mineraliseringen. I fig. 16 ses samma individs röntgenbilder samt histopatologiska preparat.



Figur 16. Röntgenbild på intraartikulär mineralisering (pil) i mediolateral projektion (A). Proximodistal projektion av uttagna menisker med medial meniskmineralisering (pil)(B). Meniskerna i (B) är approximativt anatomiskt placerade i förhållande till varandra. Vid histopatologisk undersökning sågs mineraliseringen i den mediala menisken som ett blå-rosa område på H&E-färgning (pil) (C), där även en snittartefakt kan ses mitt i preparatet. (D) preparat från samma menisk med mineraliseringen (pil) brunfärgad med von Kossa-färgning.

En av de ytterligare katterna hade en mineralisering i vänster knä vilken låg på gränsen för den kraniala avgränsningen i mediolateralprojektion (Fig. 17). Misstanken blev då att detta kunde vara en mineralisering som inte var lokaliserad inuti menisken. Placeringen stämde överens med det kraniala meniskligamentet, men kunde också utgöra mineralisering i knäledens infrapatellara fettkudde eller utgå ifrån ledkapseln. Vid dissektion hittades senare en tvådelad mineralisering varav en låg i anslutning till, men inte inuti meniskvävnaden (Fig. 17), och den andra i den fibrösa vävnaden kranialt om meniskligamentet. Bilder från kattens knäled inkluderas som ett illustrativt exempel på mineraliseringsplacering, trots att det rör sig om ett vänsterknä.



Figur 17. (A) Mediolateral röntgenprojektion av vänster knä från katt (inte inkluderad i statistiska analyser). Pilen visar en intraartikulär mineralisering i en atypisk position för meniskmineralisering. Mineraliseringen ligger på gränsen till den kraniala anatomiska begränsningen, vilket ökar sannolikheten för att den inte befinner sig inuti menisken. (B) Uttagna mediala menisker ur distal vy (upp och nervänd) där de ihåliga svarta pilarna visar mineraliseringen och den ihåliga vita pilen visar var meniskens kraniala pol slutar. Den ifyllda pilen visar var den avlånga mineraliseringen ligger dold inuti fettvävnaden. (C) Röntgenbild ur distal vy av de urtagna meniskerna där de två mineraliseringarna kan urskiljas tydligt. Den ihåliga pilen visar mineraliseringen som låg precis kranialt om menisken och den ifyllda pilen visar den avlånga mineraliseringen som låg i fettvävnaden. (D) H&E-färgat histologipreparat av meniskens kraniala ligament och området framför där mineraliseringen var lokaliserad. Ett nästan 2 mm långt område med trabekulärt ben och benmärg (pilar) kan ses.

Intraartikulär mineraliseringvolym's samband med sesamoidbenvolym, femurvolym och ålder

Inget signifikant samband kunde påvisas mellan intraartikulär mineraliseringsvolym och volymen av knäledens sesamoidben och femur. Inget signifikant samband kunde påvisas mellan mineraliseringsvolym och katternas ålder.

En signifikant skillnad ($p=0,044$) kunde ses på mediala fabellens volym i de två grupperna med och utan intraartikulär mineralisering (Tabell 5). Vid jämförelse av grupperna hittades dock ingen signifikant skillnad i volym med avseende på de andra sesamoidbenen eller femur.

Tabell 5. Spridning och medelvärde av femurs och sesamoidbenens volym (manuella ROI-metoden) vid förekomst av intraartikulär mineralisering detekterad med DT

Intraartikulär mineralisering	Volym (mm ³)									
	Femur		Lateral fabell		Medial fabell*		Popliteal sesamoid		Patella	
	Spann	\bar{x}	Spann	\bar{x}	Spann	\bar{x}	Spann	\bar{x}	Spann	\bar{x}
Detekterad (n=14)	5674,2–14 595,2	9 452,9	30,6–69,5	47,3	7,0–31,3	14,2	9,4–38,2	22,3	185,6–480,6	307,8
Inte detekterad (n=17)	6357,2–13 553,7	9 328,6	28,1–73,1	45,0	1,19–16,7	7,6	13,8–32,5	21,0	192,1–392,9	282,6

* signifikant resultat (t-test)

\bar{x} = medelvärde

Korrelation mellan femurvolym (representativt för kattstorlek) och volymen på alla sesamoidben, med undantag för den mediala fabellen, var signifikant (Tabell 6). Sambandet mellan femurvolymen och laterala fabellen samt det popliteala sesamoidbenet var starkt, och femurvolymens korrelation med patella var mycket starkt. Den laterala fabellens volym visade en stark korrelation med volymen av både patella och det popliteala sesamoidbenet. Korrelationen mellan patellas och det popliteala sesamoidbenets volym var också starkt. Den mediala fabellens volym uppvisade dock inte signifikant korrelation med någon av de andra sesamoidbenens volym. Vid normalitetstest (Shapiro-Wilk) av medial fabellvolym var p-värdet 0,045. Dock användes parametriskt test (t-test) då det kan användas med gott resultat även på icke-normalfördelat och litet material, vilket ger högre power än om icke-parametriska test använts (Minitab, 2015; de Winter 2013).

Tabell 6. Översikt resultat korrelation mellan sesamoidbensvolym och femurvolym

Parameter 1	Parameter 2	Antal katter (n=31)	Korrelationskoefficient (r)	P-värde
Femurvolym	Volym lateral fabell	31	0,733	<0,001
	Volym medial fabell	19	0,137	0,3
	Volym poplitealt sesamoidben	31	0,625	<0,001
	Volym patella	31	0,82	<0,001
Volym medial fabell	Volym lateral fabell	19	0,028	0,295
	Volym poplitealt sesamoidben	19	0,061	0,422
	Volym patella	19	0,239	0,069
Volym lateral fabell	Volym poplitealt sesamoidben	31	0,613	<0,001
	Volym patella	31	0,761	<0,001
Volym patella	Volym poplitealt sesamoidben	31	0,752	<0,001

Utvärdering av röntgen jämfört med DT för detektion av intraartikulär mineralisering

I 18 högerknäleder bedömdes förekomst av intraartikulär mineralisering lika av alla tre bedömare (AC, ChL och LL) innan konsensus. Tio knäleder bedömdes olika och konsensus gav resultatet att fem leder bedömdes ha intraartikulär mineralisering och resterande fem bedömdes sakna det. En led med intraartikulär mineralisering exkluderades från röntgenbedömningen då projektionerna inte var ortogonala vilket omöjliggjorde säker bestämning huruvida mineraliseringen låg innanför begränsningarna eller inte.

Efter konsensus bedömdes totalt 13 leder att ha intraartikulära mineraliseringar enligt röntgenbilderna av höger knä, jämfört med 12 leder på DT-bilderna. Två knän bedömdes ha intraartikulär mineralisering på röntgen, men bedömning av deras DT-bilder var negativ. En knäled bedömdes ha intraartikulär mineralisering på DT-bilderna, men bedömdes som negativ på röntgen.

Korrelationen mellan bedömningarna av röntgen- och DT-bilder var signifikant ($p=0,00005$). Med DT som ”gold standard” beräknades röntgens sensitivitet vara 91,7 % och specificitet 87,6 %.

Intraartikulär mineraliserings och mediala fabellens samband med brosklesioner

Inga signifikanta samband kunde hittas mellan volym eller förekomst av intraartikulära mineraliseringar och graden av morfologiska osteoartritlesioner (Tabell 7 & 8). Inget signifikant samband kunde heller påvisas mellan förekomst av mineraliserad medial fabell och morfologiska osteoartritlesioner i ledbrösket.

Tabell 7. *Spann och medianvärde av brosklesioner i olika broskregioner hos katter med och utan intraartikulär mineralisering*

Intraartikulär mineralisering	Brosklesionsgradering (0 – 6)*									
	Femurkondyler		Medial tibialkondyl, fibröst brosk		Medial tibialkondyl, hyalint brosk		Lateral tibialkondyl		Patella	
	Spann	Median	Spann	Median	Spann	Median	Spann	Median	Spann	Median
Detekterad (n=13)	0-2	0	0-5	2	0-4	2	0-2	1	0-2	1
Inte detekterad (n=16)	0-3	0	0-3	2	0-3	2	0-6	2	0-2	1

*Grad 0 – normalt och intakt ledbrosk

Grad 1 – intakt ledbroskyta men med t ex ödem i matrix och cellhypertrofi

Grad 2 – diskontinuitet i ledbroskytan med t ex djupare matrixfibrillering

Grad 3 – vertikala fissurer i ledbrosket

Grad 4 – broskerosion

Grad 5 – broskulceration (denudation/avskalning)

Grad 6 – broskulceration med deformation och benremodellering

Tabell 8. *Antal katter per osteoartritgrad av hela knäleden hos katter med och utan intraartikulär mineralisering*

Intraartikulär mineralisering	Antal katter per osteoartritgrad				
	Normala (grad 0)	Lindriga (grad 1-2)	Måttliga (grad 3-4)	Kraftiga (grad 5-6)	Medelvärde grad
Detekterad (n=12)*	1	10	1	0	1,23
Inte detekterad (n=15)*	2	12	1	0	1,31

* en katt borttagen per grupp p.g.a. att patellapreparat saknades

Korrelation mellan volymmättningsmetoderna

Den approximativa volymläsningsmetoden som initialt användes i denna studie visade en god korrelation med den manuella ROI-metoden (Tabell 9). Volymläsningsmetoden gav dock konsekvent nästan dubbelt så stora volymer som den manuella ROI-metoden.

Tabell 9. Jämförelse mellan approximativ volymläsningsmetod och manuell ROI-metod

	Medelvärde volymläsnings metod (mm ³)	Medelvärde manuell ROI-metod (mm ³)	P-värde	r _{Spearman}
Intraartikulär mineralisering*	4,55	2,14	<0,001	0,918
Lateral fabell	76,8	46,04	<0,001	-
Medial fabell	20,89	10,75	<0,001	-
Poplitealt sesamoidben	37,75	21,6	<0,001	-

*ej normalfördelad

DISKUSSION

Intraartikulär mineralisering

Samband med kattstorlek, sesamoidben och ålder

Inget signifikant samband kunde hittas mellan intraartikulär mineraliseringsvolym, femurvolym (kattstorlek), sesamoidbensvolym, ålder eller kön. Detta är förvånande då starka samband har hittats i andra studier mellan intraartikulär mineralisering och ålder (Freire et al. 2010; Ariffin 2015). Freire et al. (2010) hittade signifikant korrelation mellan förekomst av meniskmineralisering och katters ålder. Ariffin et al. (2015) påvisade också signifikant korrelation mellan intraartikulär mineralisering och ålder. En betydande skillnad som kan påverka resultatet i denna studie jämfört med Freire et al. (2010) och Ariffin et al. (2015) är att de intraartikulära mineraliseringarna som hittades i detta examensarbete genomgående var betydligt mindre i storlek. Voss et al. (2015) gör en intressant observation i sin studie angående mineraliseringsstorlekar, där de av mindre volym oftare tenderade att sitta inuti menisken medan de större tenderade att sitta i fettvävnaden eller i ledkapseln.

Ingen signifikant skillnad kunde ses i volymmedelvärdet av femur eller sesamoidbenen (undantag medial fabell) mellan katter med och utan intraartikulär mineralisering, vilket konfirmerar det icke signifikanta resultatet från volymkorrelationsstudierna mellan samma parametrar.

Ett tydligt linjärt samband med mycket god signifikans ($p < 0,01$) kunde ses mellan storleken på femur och sesamoidbenen (undantag medial fabell) vilket talar för att kattens storlek påverkar mineraliseringsstorleken av sesamoidbenen. Detta ger upphov till en intressant teori om det sätts i kontrast med den mycket tydliga frånvaron av signifikant korrelation med intraartikulär mineraliseringsvolym. Detta kan indikera att graden av sesamoidbensmineralisering verkar vara en separat process som inte har något med storleken av intraartikulär mineralisering att göra.

Att ålder inte visade någon signifikans ($p > 0,5$) med vare sig volymen eller förekomsten av intraartikulär mineralisering var oväntat, då tidigare studier visat på signifikant korrelation (Freire et al. 2010; Ariffin 2015). Ett samband mellan dessa parametrar kan dessutom förväntas

ha en något falskt hög korrelation, vilket gör bristen på samband än mer oväntad. Detta på grund av att äldre katter har haft längre tid på sig att drabbas av ledtrauma eller ledpatologi, som korsbandsskada eller patellaluxation, vilket har visats ge högre prevalens av intraartikulära dystrofiska mineraliseringar (Reinke & Mughannam 1994; Whiting & Pool 1985; Harasen & Little 2012).

Den histologiska delen av studien inkluderade 29 katter, varav majoriteten hade liten mineraliseringsvolym uppmätt på DT. Detta resulterade i en noggrannare undersökning av eventuella samband rörande mineraliseringar av mindre storlek. Det hade dock varit fördelaktigt om katterna initialt hade screenats bilddiagnostiskt så att ett bredare spektrum av mineraliseringsstorlekar hade kunnat erhållas. Dock hade materialmängden då behövt utökas något för att varje gruppering av mineraliseringsstorlek inte skulle innehålla ett för litet antal katter. Det använda materialet i denna studie bestod dock av befintligt material från en annan studie, så screening av katter var inte någonting som kunde påverkas under detta examensarbets planering eller utförande.

Den mediala fabellen

Ett intressant undantag från de annars starka korrelationerna mellan femurvolym och sesamoidbensvolym utgjordes av den mediala fabellen. Ett signifikant samband kunde inte påvisas mellan den mediala fabellens volym och de övriga fabellerna eller femur. Detta indikerar att även mineralisering av den mediala fabellen kan utgöra en oberoende process från den normala mineraliseringen av övriga sesamoidben. Ariffin (2015) påvisade ett starkt samband mellan förekomst av mineraliserad medial fabell och graden av broskskada och osteoartritlesioner, vilket dock inte kunde påvisas i denna studie. Etiologin bakom detta spekulerades bland annat kunna vara att osteoartrit i en led stimulerar mineraldeposition på fabellerna, vilket inkluderar mineralinlagring i det fibrösa brosket i den mediala fabellen.

Dock undersöktes samband mellan intraartikulär mineraliseringsvolym och medial fabellvolym i detta examensarbete utan att något signifikant samband kunde hittas. Detta samband hade kunnat förväntas finnas om intraartikulär mineralisering hade haft ett samband med broskskador såsom medial fabell visades ha i Ariffin et al. (2015). En möjlig förklaring till varför detta samband inte kunde påvisas i denna studie är också att enbart nio katter hade både intraartikulär mineralisering och mineraliserad medial fabell, vilket är ett litet antal för att säkert kunna dra några slutsatser från.

En signifikant skillnad i medial fabellvolym kunde dock ses mellan de katter som hade intraartikulär mineralisering och de som inte hade det. Volymmedelvärdet av den mediala fabellen för katter med intraartikulär mineralisering var $14,23 \text{ mm}^3$, och för katter utan $7,62 \text{ mm}^3$, vilket visar att katter med intraartikulär mineralisering har signifikant större medial fabellvolym. Dock bör detta resultat tolkas med försiktighet, då regressionsanalysen avseende samma parametrar hade ett mycket högt p-värde. Avsaknad av normalfördelning ($p=0,045$) beträffande den mediala fabellens volym kan ha bidragit till att p-värdet inte är helt tillförlitligt och inga andra samband mellan medial fabell och intraartikulär mineralisering var signifikanta.

Man skulle kunna utöka materialet i denna studie genom att addera fler röntgen- och DT-bilder från levande katter från en nu pågående forskningsstudie vid Sveriges Lantbruksuniversitet (SLU) vilket skulle möjliggöra vidare undersökning av medial fabellförekomst och volym. Det skulle vara intressant att ta reda på om den signifikanta skillnaden i medial fabellvolym även går att få fram med ett större material som då kanske blivit normalfördelat. Det är även intressant att jämföra ett utökat material med de övriga sesamoidbenen för att konfirmera och vidare utreda huruvida den mediala fabellens mineralisering korrelerar med de andra sesamoidbenens volym.

Samband med morfologiska osteoartritlesioner

Inga signifikanta samband kunde hittas mellan volym eller förekomst av intraartikulär mineralisering och morfologiska osteoartritlesioner i ledbrösket. Detta skiljer sig från andra studier (Freire et al. 2010; Ariffin 2015; Voss et al. 2015) vilka påvisat signifikanta samband mellan intraartikulär mineralisering och osteoartritlesioner i knäleden. Freire et al. (2010) hittade signifikant korrelation mellan procentuell mineraliserad meniskarea och graden av makroskopiska broskskador i knäleden. Mineraliseringsprocent korrelerade i studien starkt med broskskador på den mediala femurkondylen, måttligt med mediala tibiakondylen och svagt med de sammanlagda ledbrösklesionerna. Studien visade även en mycket stark korrelation mellan meniskmineralisering och radiografisk, subjektiv bedömning av osteoartrit där författaren dock uppmanar till försiktig tolkning då meniskmineralisering räknades in som ett radiologiskt tecken på osteoartrit. Detta bidrog till att höja ledens totala osteoartritgradering, vilket lägger grunden för en falskt hög korrelation mellan meniskmineralisering och subjektiv radiografisk osteoartritbedömning.

Ariffin et al. (2015) hittade ett signifikant samband mellan kraftigare makroskopiska brosklesioner och närvaro av intraartikulär mineralisering. Storleken av mineraliseringen var också starkt korrelerad till brosklesioner på mediala femurkondylen och mediala tibiakondylen. Författaren drar slutsatsen att det indikerar en linjärt ökad risk för kraftig brosklesion i förhållande till mineraliseringsstorlek. I Ariffin et al. (2015) uppmättes det största måttet på varje intraartikulär mineralisering i mediolateral projektion. 29 mineraliseringar var < 2 mm, sju stycken var 2-3 mm och 13 stycken var > 3mm. I jämförelse så uppmättes i detta examensarbete enbart en intraartikulär mineralisering vars största mått var > 2 mm.

Voss et al. (2015) hittade ett signifikant samband mellan kraftiga brosklesioner och storlek på intraartikulära mineraliseringar. Sambandet visade att medelstora-stora mineraliseringar korrelerade med kraftigare brosklesioner än vad inga-små mineraliseringar gjorde. Dock ingick enbart tio katter i undersökningsgruppen för den frågeställningen, vilket gör att resultatet bör tolkas med försiktighet. Voss et al. (2015) hade i sin studie totalt 69 katter varav 20 hade medelstora ($2,25 - 6,25 \text{ mm}^2$) eller stora ($>6,25 \text{ mm}^2$) intraartikulära mineraliseringar, medan det i detta examensarbete enbart fanns tre katter med mineraliseringsarea $>2,25 \text{ mm}^2$ där den största var $3,1 \text{ mm}^2$.

En potentiell orsak till bristen på signifikanta samband i detta examensarbete skulle kunna vara på grund av att de katter som ingick i materialet nästan uteslutande hade små mineraliseringar

med en medelvolum på 2,14 mm³. Detta gjorde att samband med större mineraliseringar inte gick att undersöka på grund av att de var såpass få i antal. Att mineraliseringarna var små är lätt att se vid jämförelse av mätvärden samt bilder från de andra studierna på området där ett flertal röntgenbilder visar betydligt mer omfattande intraartikulära mineraliseringar.

Avsaknaden av signifikanta samband mellan intraartikulär mineralisering och osteoartrit kan tala för att de intraartikulära mineraliseringarna inte var stora nog för att påverka varken meniskens biomekaniska funktion eller ledbroskets integritet. Eftersom det fortfarande är okänt huruvida intraartikulär mineralisering är ett svar på, eller kan ge upphov till brosklesioner så kan dock inga säkra slutsatser dras. Dock har bland annat Freire et al. (2010) spekulerat att meniskmineraliseringar verkar vara sekundärt till osteoartrit snarare än tvärtom. Bristen på samband i detta examensarbete indikerar därför att intraartikulära mineraliseringar skulle kunna vara en helt oberoende process, då det inte stödjer teorin att mineraliseringar orsakar ledbroskskador.

Om man utgår från teorin att intraartikulär mineralisering är sekundärt till osteoartrit kan man spekulera i att det kanske kan vara mer sannolikt att hitta signifikanta samband med osteoartritlesioner i ledbrosket om materialet innehållit kraftiga brosklesioner. Detta skulle kunna utgöra en ytterligare anledning till varför ett signifikant samband inte kunde hittas, då inga katter i denna studie hade kraftiga broskförändringar (grad 5-6) i knäledernas sammanlagda gradering. Av de två katter som hade kraftiga ledbroskförändringar i en enskild ledbroskregion hade bara en av dem meniskmineralisering. Enbart tre katter uppvisade ledbrosk helt utan osteoartritlesioner, vilket medför att påståendet att de små intraartikulära mineraliseringarna kan vara oberoende från brosklesioner inte är lika starkt.

Etiologi och prevalens

Etiologin bakom små intraartikulära mineraliseringarna kan fortfarande inte förklaras, men resultaten antyder att de är en process som sker oberoende av närvaro av brosklesioner. Möjligheten finns att dessa små mineraliseringar utgör en vestigial struktur eller en anatomisk variation. Freire et al. (2010) lade fram en teori om att kalcifikationerna kan vara ett tidigare stadie av en ossifikationsprocess i menisken, medan Voss et al. (2015) observerade att vissa knäleder kunde ha både kalcifikationer och ossifikationer samtidigt och att ossifikationerna tenderade att sitta utanför meniskvävnaden. Då Voss et al. (2015) observerade att de största mineraliseringarna tenderade att sitta utanför meniskvävnaden så skulle detta kunna styrka argumentet att mineraliseringar av mindre volym inte har någon koppling till osteoartrit. Detta p.g.a. att Voss et al. (2015) hittade ett potentiellt samband mellan brosklesioner och mineraliseringar av större (men inte av mindre) storlek. De katter med större mineraliseringar i Voss et al. (2015) tenderade dessutom att ha kraftigare skador på det kraniala korsbandet, vilket kan indikera att kraftigare ledpatologier såsom korsbandsskador, patellaluxationer och kanske kraftig osteoartrit snarare tenderar att utveckla intraartikulära mineraliseringar i ledkapseln och fettvävnaden snarare än meniskerna.

Inga slutsatser kan dras i detta examensarbete angående hur stor del av de observerade intraartikulära mineraliseringarna som var kalcifikationer eller ossifikationer på grund av att

majoriteten av dem inte genomgick histopatologisk undersökning. En histologisk analys av de detekterade mineraliseringarna skulle vara mycket intressant för att bekräfta hur många av dem som var meniskmineraliseringar och hur många som satt i ledkapseln eller i fettvävnaden.

Voss et al. (2015) fann att de allra flesta små mineraliseringar befann sig inuti meniskerna medan de större ossifikationerna snarare satt i ledkapseln eller i fettvävnaden. Det är möjligt att materialet i detta examensarbete av en slump bara innehöll små intraartikulära mineraliseringar, men det skulle också kunna tänkas bero på att Voss et al. (2015) hade en urvalsbias då de fokuserade på katter med korsbandsskador vilket även gav högre prevalens än övriga studier. Detta skulle gett högre andel katter med intraartikulära mineraliseringar då korsbandsskador kanske ökar tendensen att utveckla mineraliseringar på andra ställen i leden än inuti menisken. Då histopatologi inte utfördes på alla katters menisker i detta examensarbete är det omöjligt att säga säkert om det rör sig om en faktisk meniskmineralisering eller om det utgår från annan vävnad. Dock indikerar positionen att det förmodligen rör sig om meniskmineraliseringar. Den slutsatsen kan dras med relativ säkerhet då Freire et al. (2010) jämförde radiologiska bilder från levande katter med bilder från kattkadaver. I de fall där röntgenbilderna på intraartikulär mineralisering hos kattkadavren såg likadana ut som hos de levande katterna hittades konsekvent mineralisering i menisken vid senare histologisk undersökning. Om mineraliseringen var onormalt placerad, till exempel mitt på den kraniala begränsningen (Fig. 17A), indikerade detta med stor sannolikhet att strukturen inte var en meniskmineralisering.

Bilddiagnostik

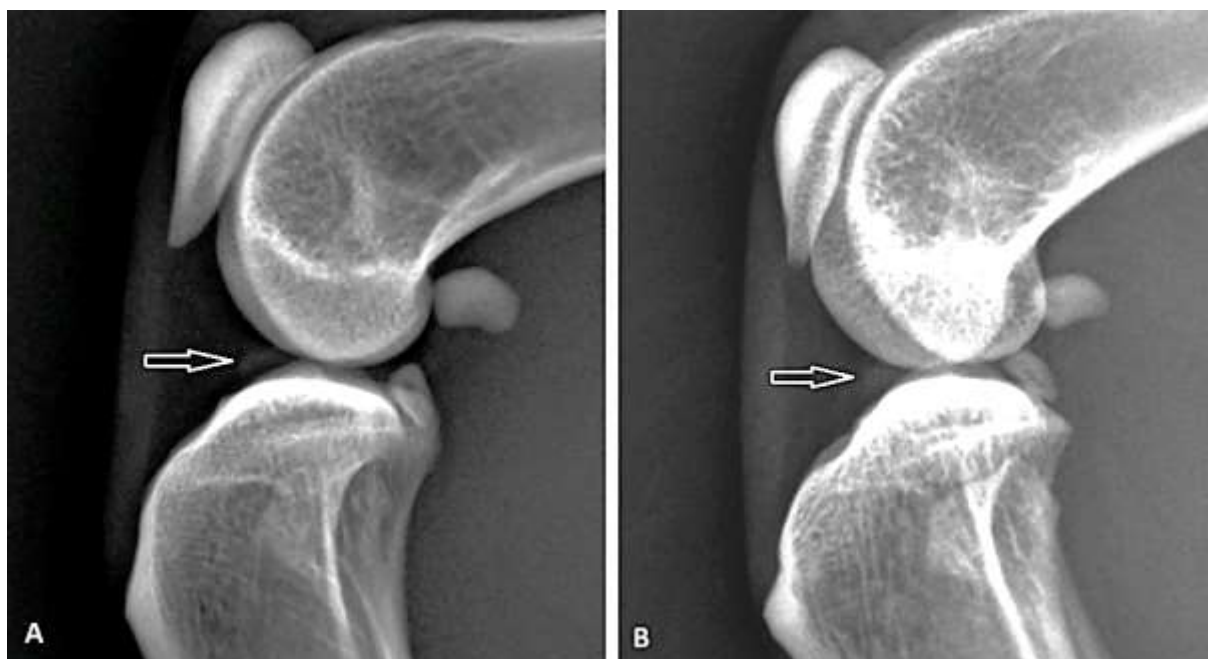
Röntgen visade sig i detta arbete ha en hög sensitivitet (91,7%) och specificitet (87,6 %) vilket gör det till en tillförlitlig men inte perfekt metod för detektion av intraartikulära mineraliseringar. Resultatet visade inte på någon större skillnad mellan röntgen och DT i mängden detekterade mineraliseringar, och överensstämmelsen var god. Av de tre katter som bedömdes olika på de två modaliteterna var en katt bedömd som positiv (närvaro av mineralisering) på DT men enhälligt negativ (3 av 3 personer) på röntgen. Just denna mineralisering belyser fördelen med DT då mineraliseringen detekterades relativt lätt på DT-bilden. Mineraliseringen var mindre än voxelstorleken ($0,12 \text{ mm}^3$) på DT, vilket gjorde att den bara kunde ses på ett av bildskikten. Denna mineralisering hade varit lätt att avfärda som en artefakt eller en tätare del av menisken, men med hjälp av HU-mättningsverktyget kunde det kontrolleras att HU låg över den satta gränsen på 350 HU vilket bekräftade att det rörde sig om en mineralisering.

De resterande två katterna som bedömdes som positiva på röntgen (Fig. 18) men negativa på DT, bedömdes inte enhälligt positivt vid röntgenkonsensus. Vid mätning av HU-värden på DT-bilderna uppnådde ingen av mineraliseringarna den satta gränsen på 350 HU, vilket med DT som "gold standard" gör dessa två röntgenbedömningar till falskt positiva. Båda dessa bilder hade dock HU-värden som låg på 272 respektive 322 HU, vilket kan användas som ett argument för att gränsen istället kanske borde sättas till 300 HU vid mineraliseringsdiagnostik. Histologisk undersökning av dessa två menisker skulle vara mycket intressant för att ta reda på om det rör sig om mineralisering. Om detta vore fallet så innebär det att röntgen var väldigt bra på att detektera mineralisering. Dock hade detta resultat jämnats ut om en lägre HU-gräns hade

valts vid DT-avläsningen, vilket inte är ovanligt då satta nedre HU-gränser för mineralisering varierar i litteraturen. Misra et al. (2015) ansåg i sin humanstudie att DT och röntgen var likvärdiga i att detektera intraartikulära mjukdelskalcifikaationer, men poängterade att DTs stora fördel ligger i bättre visualisering av de djupt liggande strukturerna och elimination av summationsproblematiken.

Något som blev tydligt under detta examensarbete var att mineraliseringar av liten volym eller diffus utlinjering och täthet kan ge upphov till stor tveksamhet om huruvida det som observeras är en mineralisering eller inte. Bedömningen försvårades speciellt om summationsproblematik uppstod eller om mineraliseringen bara syntes i en projektion. Alla tre personer som bedömde och mätte mineraliseringar på röntgenbilderna upplevde bedömningen som svår. Andra försvårande omständigheter var att HU-värden inte kunde användas som konfirmation, samt att vissa mineraltätheter bara kunde åskådliggöras i en enda projektion vilket omöjliggör god topografisk beskrivning. Att applicera detta på verkligheten ger en bild av att det kan vara svårt att diagnosticera små intraartikulära mineraliseringar om röntgen används på grund av osäkerheten som uppstår, vilket inte kan klargöras med HU-mätning. Resultaten indikerar därför att det finns belägg för att DT skulle kunna anses som "gold standard" med avseende på intraartikulära mineraliseringar. Histologisk konfirmering av mineraliseringarna skulle stärka påståendet ytterligare.

En nackdel i planeringen av bildavläsningen utgjordes av att DT-bilderna bedömdes före röntgenbilderna. Även om röntgenbilderna var anonymiserade så gav fortfarande den första bedömningen av DT (som var "gold standard") en ungefärlig uppfattning om hur många mineraliseringar som "borde" ses vid röntgenbedömningen. Denna bias mildrades något av att tre personer avläste röntgen, varav en person inte sett DT-bilderna innan, och att slutgiltig bedömning av intraartikulär mineraliserings närvaro avgjordes via konsensus.



Figur 18. *Mediolateral projektion av två knäleder från katt. (A) visar röntgenbild av höger knäled på en av katterna som efter konsensus bedömdes ha en intraartikulär mineralisering. 2/3 avläsare bedömde initialt att leden innehöll en mineralisering. (B) visar den andra katten som efter konsensus också bedömdes ha en intraartikulär mineralisering. 2/3 avläsare bedömde initialt att leden inte innehöll en mineralisering, men bedömningen ändrades efter konsensus till positivt.*

Att ha kunskap om den detaljerade anatomin och infästningarna av de många olika ligamenten var en viktig del av arbetet och kom till stor nytta vid bildbedömningen. Några intraartikulära mineraliseringar befann sig på gränsen för de avgränsningar som satts, och vissa sträckte sig även delvis utanför dessa. Att då kunna bestämma vilken vävnad mineraliseringen sannolikt befann sig i eller utgick ifrån fick extra stor betydelse då majoriteten av lederna inte genomgick histologisk undersökning med avseende på mineraliseringens placering.

En viktig sak att poängtera är att bildmaterialet i detta examensarbete inte var specifikt anpassat för jämförelse av röntgen eller att räkna ut dess sensitivitet och specificitet med avseende på intraartikulär mineralisering. Detta på grund av att befintligt material från en annan studie med annan frågeställning användes. Röntgenbilderna var av mycket god diagnostisk kvalitet, men en större säkerhet i detektion, samt uträkning av sensitivitet och specificitet hade eventuellt kunna uppnås om extra höga krav hade ställts på helt raka projektioner. Detta hade minimerat summationsproblematiken hos de mindre och diffusare mineraliseringarna samt underlättat uppdelningen av leden på ett mer systematiskt och likriktat sätt.

Leduppdelningen utfördes subjektivt, vilket medförde att alla leder inte fick en identisk gränsdragning vilket kan ha utgjort en felkälla. På grund av praktiska skäl så drogs ledavgränsningarna approximativt då inga tydliga anatomiska hållpunkter finns för att exakt markera ledutrymmets begränsning. Detta ledde till att den kraniala begränsningen i de flesta fall hamnade mer kranialt, och den kaudala begränsningen mer kaudalt än ledens faktiska utsträckning. Detta kan ha bidragit till att mineraliseringar utanför menisken kan ha misstagits för intrameniskala strukturer. Dock så kompenseras denna felkälla något av att den typiska placeringen för meniskmineralisering låg väl innanför den kraniala begränsningen, nära femurkondylen, medan mer kranialt placerade mineraltätheter tenderade att sitta utanför meniskerna.

Mätmetoder

Femurvolym bedömdes som ett mer pålitligt mått av kattarnas storlek än vikt då många av katterna som ingick i studien led av sjukdom och kunde förväntas ha lägre vikt än normalt. Att mäta femurvolym med den manuella ROI-metoden hade dock varit enormt tidskrävande, vilket gjorde att den approximativa volymberäkningen användes.

Det fanns en god korrelation mellan de två mätmetoderna som användes vid volymmätning av intraartikulär mineralisering och sesamoidben. Dock tenderade volymerna att vara betydligt större med den approximativa volymberäkningsmetoden. Detta kan förklaras av att en sfär med samma diameter som en kubs sidor vid volymberäkning får hälften så stor volym som kubens. Detta återspeglas väl i jämförelsen mellan de två mätmetoderna då den approximativa

volymberäkningsmetoden konsekvent gav ungefärlig dubbel volym på mineraliseringarna och sesamoidbenen. Den manuella ROI-metoden är mer tidskrävande men bedöms fortfarande vara den bästa metoden. Den goda korrelationen visar dock att volymberäkningsmetoden är fullt användbar som en approximativ volymberäkning.

KONKLUSION

I denna knäledsstudie på katt kunde inget signifikant samband hittas mellan förekomst av små intraartikulära mineraliseringar och morfologiska osteoartritleSIONER i ledbrosket. Samband kunde inte heller påvisas mellan intraartikulära mineraliseringar och femurvolym (kattstorlek), ålder, kön eller volym på knäledens sesamoidben vilket indikerar att små intraartikulära mineraliseringar i knäleder hos katt inte verkar vara kopplade till kroppsstorlek, ålder eller osteoartrit. Dock kunde ett mycket starkt signifikant samband ses mellan femurvolym och volym av alla knäledens sesamoidben, med undantag för den mediala fabellen. Detta resultat, satt i samband med den mycket tydliga frånvaron av samband med intraartikulär mineralisering, bidrar ytterligare till teorin att små intraartikulära mineraliseringar i regionen för den mediala meniskens kraniala pol är en process som är oberoende av osteoartrit och volymen av knäledsassocierade mineraliserade strukturer.

Med avseende på röntgens detektion av intraartikulära mineraliseringar så visades sensitivitet och specificitet vara hög när DT användes som "gold standard". Detta resultat indikerar att DT och röntgen är likvärdiga, men att DT ger större säkerhet hos bildavläsaren på grund av den kompletterande HU-mätningen samt att summationsproblematiken elimineras. Röntgen beräknades ändå ha en så pass hög sensitivitet att man kan diagnosticera mineralisering utan större problem med falskt negativa resultat. Röntgen är alltså fortfarande en god modalitet för utvärdering av förekomst av intraartikulär mineralisering, men summationer kan försvåra detektion av de minsta och diffusa mineraliseringarna. Dock visar detta examensarbete att detta potentiellt inte har någon praktisk betydelse då de minsta och diffusa mineraliseringarna inte verkar vara kopplade till brosklesioner och därför sannolikt inte har någon klinisk betydelse.

TACK

Ett stort, stort tack till alla fantastiskt hjälpsamma, positiva och kunniga personer som varit mina stöttepelare under arbetets gång, samt ett extra tack till mina fantastiska handledare:

Charles Ley, Handledare, Institutionen för kliniska vetenskaper (KV)

Cecilia Ley, Biträdande handledare, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap (BVF)

Kerstin Hansson, Examinator, Institutionen för kliniska vetenskaper (KV)

Peder Eriksson, Obduktionstekniker, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap (BVF)

Christina Nilsson, Biomedicinsk Analytiker på histologilaboratoriet, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap (BVF)

Agneta Boström, Laboratorieassistent på histologilaboratoriet, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap (BVF)

LITTERATURFÖRTECKNING

- Akiyoshi, T., Uchida, K. & Tateyama, S. (2004). Expression of bone morphogenetic protein-6 and bone morphogenetic receptors in myoepithelial cells of canine mammary gland tumors. *Veterinary pathology*, 41:154–163.
- Allan, G.S. (2000). Radiographic features of feline joint diseases. *Veterinary clinics of North America: Small animal practice*, 30:281–302.
- Ariffin, S.M.Z. (2015). *Radiographic and pathologic studies of feline appendicular osteoarthritis*. Diss. University of Glasgow.
- Arnbjerg, J. & Heje, N.I. (1993). Fabellae and popliteal sesamoid bones in cats. *Journal of small animal practice*, 34:95–98.
- Bansal, G.J. (2006). Digital radiography. A comparison with modern conventional imaging. *Postgraduate medical journal*, 82:425–428.
- Beale, B.S. (2009). Feline arthroscopy. I: Montavon, P. M., Voss, K. & Langley-Hobbs, S. (red), *Feline orthopedic surgery and musculoskeletal disease*. St Louis: Saunders, 283–307.
- Bennet, D. (2010). Canine and feline osteoarthritis. I: Ettinger, S. J. & Feldman, E. C. (red), *Textbook of veterinary internal medicine*. St Louis: Saunders, 750–761.
- Bennett, D. & Morton, C. (2009). A study of owner observed behavioural and lifestyle changes in cats with musculoskeletal disease before and after analgesic therapy. *Journal of feline medicine and surgery*, 11:997–1004.
- Blood, D.C., Studdert, V.P. & Gay, C.C. (2007). *Saunders comprehensive veterinary dictionary* 3. ed. St Louis: Saunders.
- Carrig, C.B. (1997). Diagnostic imaging of osteoarthritis. *Veterinary clinics of North America: Small animal practice*, 27:777–814.
- Cervený, C. & Paral, V. (1995). Sesamoid bones of the knee joint of the puma concolor. *Acta veterinaria Brno*, 64:79–82.
- Chandler, J.C. & Beale, B.S. (2002). Feline orthopedics. *Clinical techniques in small animal practice*, 17:190–203.
- Clarke, S.P. et al. (2005). Prevalence of radiographic signs of degenerative joint disease in a hospital population of cats. *The veterinary record*, 157:793–799.
- Clarke, S.P. & Bennett, D. (2006). Feline osteoarthritis: A prospective study of 28 cases. *Journal of small animal practice*, 47:439–445.
- d'Anjou, M. (2013). Principles of computed tomography and magnetic resonance imaging. I: Thrall, D. (red), *Textbook of veterinary diagnostic radiology*. St Louis: Saunders, 50–73.
- Dyce, K. M., Sack, W. O. & Wensing, C. J. G. (2010). General anatomy: Basic facts and concepts. I: *Textbook of veterinary anatomy*. St Louis: Saunders, 1 - 31.
- Englund, M. et al. (2015). Evidence that meniscus damage may be a component of osteoarthritis: the Framingham study. *Osteoarthritis and cartilage*, doi: 10.1016/j.joca.2015.08.005. [2015-09-10]
- Freire, M. et al. (2010). Meniscal mineralization in domestic cats. *Veterinary surgery*, 39:545–552.
- Freire, M. et al. (2011). Radiographic evaluation of feline appendicular degenerative joint disease vs. macroscopic appearance of articular cartilage. *Veterinary radiology and ultrasound*, 52:239–247.

- Ganey, T.M. et al. (1994). Meniscal ossification II. The normal pattern in the tiger knee. *Skeletal radiology*, 23:173–179.
- Ginn, P.E., Mansell, J.E.K.L. & Rakich, P.M. (2007). Skin and appendages. I: Grant Maxie, M. (red), *Jubb, Kennedy, and Palmer's pathology of domestic animals: volume 1*. St Louis: Saunders, 553–781.
- Godfrey, D.R. (2005). Osteoarthritis in cats: A retrospective radiological study. *Journal of small animal practice*, 46:425–429.
- Griffith, C.J. et al. (2007). Anatomy and biomechanics of the posterolateral aspect of the canine knee. *Journal of orthopaedic research*, 25:1231–1242.
- Harasen, G.L.G. & Little, S.E. (2012). Musculoskeletal diseases. I: Little, S. E. (red), *The cat: clinical medicine and management*. St Louis: Saunders, 704–733.
- Hardie, E.M., Roe, S.C. & Martin, F.R. (2002). Radiographic evidence of degenerative joint disease in geriatric cats: 100 cases. *Journal of the American veterinary medical association*, 220:628–632.
- Hoskinson, J.J. & Tucker, R.L. (2001). Diagnostic imaging of lameness in small animals. *The veterinary clinics of North America: Small animal practice*, 31:165–180.
- Kato, Y. et al. (2007). Meniscal ossicles. *Journal of orthopaedic science*, 12:375–380.
- Kimpe, T. & Tuytschaever, T. (2007). Increasing the number of gray shades in medical display systems - how much is enough? *Journal of digital imaging*, 20:422–432.
- Klinck, M.P. et al. (2012). Owner-perceived signs and veterinary diagnosis in 50 cases of feline osteoarthritis. *Canadian veterinary journal*, 53:1181–1186.
- Kowaleski, M.P., Boudrieau, R.J. & Pozzi, A. (2012). The stifle joint. I: Tobias, K. M. & Johnston, S. A. (red), *Veterinary Surgery: Small Animal*. St Louis: Saunders, 906–998.
- Lascelles, B.D.X. et al. (2010). Cross-sectional study of the prevalence of radiographic degenerative joint disease in domesticated cats. *Veterinary surgery*, 39:535–544.
- Lascelles, B.D.X. et al. (2007). Evaluation of client-specific outcome measures and activity monitoring to measure pain relief in cats with osteoarthritis. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 21:410–416.
- Lascelles, B.D.X. (2010). Feline degenerative joint disease. *Veterinary surgery*, 39:2–13.
- Mahoney, P. (2012). Musculoskeletal imaging in the cat: What's normal? What's abnormal? *Journal of feline medicine and surgery*, 14:13–22.
- Mahoney, P.N. & Lamb, C.R. (1996). Articular, periarticular and juxtaarticular calcified bodies in the dog and cat: a radiologic review. *Veterinary radiology & ultrasound*, 37:3–19.
- McCarthy, P.H. & Wood, A.K.W. (1989). Anatomical and radiological observations of the sesamoid bone of the popliteus muscle in the adult dog and cat. *Anatomia, histologia, embryologia*, 18:58–63.
- Minitab (2015-02-19). *Choosing between a non-parametric test and a parametric test*. <http://blog.minitab.com/blog/adventures-in-statistics/choosing-between-a-nonparametric-test-and-a-parametric-test> [2015-12-22]
- Misra, D. et al. (2015). CT imaging for evaluation of calcium crystal deposition in the knee: initial experience from the multicenter osteoarthritis (MOST) study. *Osteoarthritis and Cartilage*, 23:244–248.

- Myers, R.K., McGavin, M.D. & Zachary, J.F. (2011). Cellular adaptations, injury and death: Morphologic, biochemical and genetic bases. I: Zachary, J. F. & McGavin, M. D. (red), *Pathologic basis of veterinary disease*. St Louis: Elsevier Mosby, 2–59.
- Ogden, J.A. et al. (1994). Meniscal ossification. *Skeletal radiology*, 23:167–172.
- Orchard, G.E. (2013). Pigments and minerals. I: Suvarna, S. K., Layton, C. & Bancroft, J. D. (red), *Bancroft's theory and practice of histological techniques*. London: Churchill Livingstone, 239–270.
- Pedersen, H.E. (1949). The ossicles of the semilunar cartilages of rodents. *The anatomical record*, 105:1–9.
- Pozzi, A. & Cook, J.L. (2010). Meniscal structure and function. I: Muir, P. (red), *Advances in veterinary surgery : Advances in the canine cranial cruciate ligament*. Hoboken: Wiley-Blackwell, 29 – 35. Tillgänglig: <http://site.ebrary.com/lib/slub/reader.action?docID=10419000&ppg=29> [2015-08-28]
- Preston, T. et al. (2015). Morphometric description of the feline radius and ulna generated from computed tomography. *Journal of feline medicine and surgery*, 17:991–999.
- Pritchett, J.W. (1984). The incidence of fabellae in osteoarthritis of the knee. *The journal of bone & joint surgery (American)*, 66:1379–1380.
- Pritzker, K.P.H. et al. (2006). Osteoarthritis cartilage histopathology: Grading and staging. *Osteoarthritis and cartilage*, 14:13–29.
- Prose, L.P. (1984). Anatomy of the knee joint of the cat. *Acta anatomica*, 119:40–48.
- Purnell, M.L., Larson, A.I. & Clancy, W. (2008). Anterior cruciate ligament insertions on the tibia and femur and their relationships to critical bony landmarks using high-resolution volume-rendering computed tomography. *The American journal of sports medicine*, 36:2083–2090.
- Rahal, S.C. et al. (2013). Meniscal mineralisation in little spotted cats. *Biomed central veterinary research*, 9:50.
- Reinke, J. & Mughannam, A. (1994). Meniscal calcification and ossification in 6 cats and 2 dogs. *Journal of the American animal hospital association*, 30:145–152.
- Robertson, I.D. & Thrall, D.E. (2013). Digital radiographic imaging. I: Thrall, D. E (red), *Textbook of veterinary diagnostic radiography*. St Louis: Saunders, 22–37.
- Saunders, J. & Ohlerth, S. (2011). CT physics and instrumentation - Mechanical design. I: Saunders, J. & Schwarz, T. (red), *Veterinary computed tomography*. Chichester: Wiley-Blackwell, 1–8.
- Schwarz, T. & O'Brien, R. (2011). CT acquisition principles. I: Saunders, J. & Schwarz, T. (red), *Veterinary computed tomography*. Chichester: Wiley-Blackwell, 9–27.
- Schwarz, T. & Saunders, J. (2011). Principles of CT image interpretation. I: Saunders, J. & Schwarz, T. (red), *Veterinary computed tomography*. Chichester: Wiley-Blackwell, 29–34.
- Slingerland, L.I. et al. (2011). Cross-sectional study of the prevalence and clinical features of osteoarthritis in 100 cats. *The veterinary journal*, 187:304–309.
- Sweigart, M. a. et al. (2004). Intraspecies and interspecies comparison of the compressive properties of the medial meniscus. *Annals of biomedical engineering*, 32:1569–1579.

- Swinscow, T.D.W. (1997). *Statistics at square one*. London: British Medical Journal publishing group. Tillgänglig: <http://www.bmj.com/about-bmj/resources-readers/publications/statistics-square-one> [2015-12-08]
- Thompson, K.M. (2007). Bones and Joints. I: Grant Maxie, M. (red), *Jubb, Kennedy, and Palmer's pathology of domestic animals: Volume 1*. St Louis: Saunders, 1–184.
- Thrall, D.E. & Widmer, W.R. (2013). Radiation protection and physics of diagnostic radiology. I: Thrall, D. E. (red), *Textbook of veterinary diagnostic radiography*. St Louis: Saunders, 2–21.
- Walker, M. et al. (2002). Meniscal ossicles in large non-domestic cats. *Veterinary radiology & ultrasound*, 43:249–254.
- Weber, N.A. (1998). Apparent primary ossification of the menisci in a dog. *Journal of the American veterinary medical association*, 212:1892 – 1894.
- Whiting, P.G. & Pool, R.R. (1985). Intrameniscal calcification and ossification in the stifle joints of 3 domestic cats. *Journal of the American animal hospital association*, 21:579 – 584.
- de Winter, J.C.F. (2013). Using the Student's t-test with extremely small sample sizes. *Practical Assessment, Research & Evaluation*, 18(10). Tillgänglig: <http://pareonline.net/getvn.asp?v=18&n=10>
- Voss, K. et al. (2015). Association of mineralisations in the stifle joint of domestic cats with degenerative joint disease and cranial cruciate ligament pathology. *Journal of feline medicine and surgery*, doi: 10.1177/1098612X15606774. [2015-10-20]